

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

José da Silva Rabelo Neto

**Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais  
de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal  
e monoclínica**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor.

Orientador:

Prof. Dr.-Ing. Márcio Celso Fredel,

Coorientadores:

Prof. Dr. Håkan Engqvist,

Prof. Dr. Wei Xia

Florianópolis  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

da Silva Rabelo Neto, José

Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal e monoclinica / José da Silva Rabelo Neto ; orientador, Márcio Celso Fredel ; coorientador, Håkan Engqvist, coorientador, Wei Xia. - Florianópolis, SC, 2015.

174 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Inclui referências

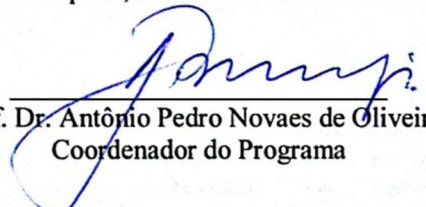
1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2. ciência e engenharia de materiais. 3. biomateriais. 4. fosfatos de cálcio. 5. substituição iônica. I. Celso Fredel, Márcio. II. Engqvist, Håkan. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. IV. Título.

José da Silva Rabelo Neto

**Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal e monoclinica**


Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Florianópolis, 17 de novembro de 2015.

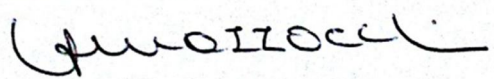


Prof. Dr. Antônio Pedro Novaes de Oliveira  
Coordenador do Programa

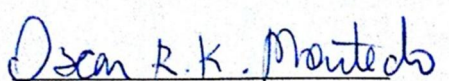
**Banca Examinadora:**



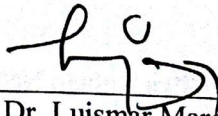
Prof. Dr. Márcio Celso Fredel,  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC



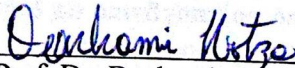
Prof.ª Dr.ª Vera Lucia Mazzocchi,  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-USP



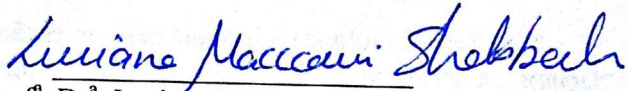
Prof. Dr. Oscar Rubem Klegues Montedo,  
Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC



Prof. Dr. Luismar Marques Porto,  
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC



Prof. Dr. Dachamir Hotza,  
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC



Prof.ª Dr.ª Luciana Maccarini Schabbach.  
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

À minha família, em especial à minha mãe Maria Emilia e ao meu pai Cláudio Maynart (*in memoriam*) pelos ensinamentos e exemplos em vida de dignidade, bondade, honestidade, fé, força, superação, humildade, solidariedade, perseverança, esperança e confiança. À Luciana e Arthur Menezes pelo companheirismo, apoio, ajuda e suporte para completar este ciclo de vida.



## AGRADECIMENTOS

A todos que de forma direta ou indireta ajudaram e contribuíram com o desenvolvimento e execução deste trabalho.

Ao programa de Ciência e Engenharia de Materiais (PGMAT) onde este trabalho nasceu e cresceu como contribuição científica.

Ao meu orientador Márcio Celso Fredel pela oportunidade de desempenhar este projeto, nossas discussões acerca do trabalho, aos ensinamentos e direcionamentos nesta jornada.

Ao meu orientador, durante o doutorado sanduíche na Universidade de Uppsala - Suécia, Håkan Engqvist, pela oportunidade de poder desenvolver parte do trabalho junto a uma universidade e grupo referência no mundo científico.

Ao meu supervisor durante o doutorado sanduíche, Wei Xia, por nossas discussões científicas muito inspiradoras, direcionamentos e ensinamentos em processos experimentais, análise de resultados e orientação científica.

Ao Prof. Dr. Mário Ernesto Giroldo Valério por todos os ensinamentos e orientações desde minha iniciação científica, por todas as contribuições nesta tese e por ser meu mentor e referência durante toda a minha jornada como pesquisador desde a graduação em Física na Universidade Federal de Sergipe - UFS.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sônia Lícia Baldochi, com quem iniciei a planejar este projeto, onde foram dados os primeiros passos em busca de um projeto na fronteira da ciência e que surgissem resultados e conhecimentos que contribuíssem com o avanço científico e tecnológico.

À empresa Innovacura, fundada pelo autor desta tese através do programa Sinapse da Inovação - SC que incentiva e investiu na abertura de empresas nascentes de base tecnológica, pela oportunidade de poder desenvolver o trabalho em busca de inovação e geração de novos produtos, um aprendizado constante e desafiador na busca da aplicabilidade dos conhecimentos gerados na pesquisa científica ao desenvolvimento e com estágio final na inovação de produtos de alta tecnologia.

Aos técnicos de laboratório que contribuem enormemente na aquisição e análises dos dados.

“Para ser aceito como paradigma, uma teoria deve parecer melhor que suas competidoras, mas não precisa (e de fato isso nunca acontece) explicar todos os fatos com os quais pode ser confrontada”.

(Thomas S. Khun, 1962)





## RESUMO

### **Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal e monoclínica**

O presente trabalho objetivou, através de incorporação dos íons de estrôncio ( $\text{Sr}^{2+}$ ), controlar parâmetros de síntese na formação de diferentes morfologias e fases cristalográficas de fosfatos de cálcio. Foi feito um estudo sobre a composição, a estrutura e a formação de tecidos duros e a família de materiais relacionados a estes, bem como seus modos de crescimento e a estrutura de cristais formados relacionados à biomineralização natural e seu biomimetismo influenciado por substituições iônicas em rede cristalina. Para a síntese, por precipitação química de soluções aprimoradas, procede-se com a reação entre as soluções de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  precipitadas em  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  com relação  $\text{Ca/P}=1,67$  e com 19 at.%, 40 at.% e 53 at.% de íons  $\text{Sr}^{2+}$ , em meio ácido a básico em  $\text{pH}=6, 7$  e  $8$ . As amostras foram caracterizadas por difração de raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS). Foram encontradas as fases cristalográficas brushita (DCPD), monetita (DCP), hidroxiapatita (HAP) monoclínica e hexagonal. A incorporação supersaturada de íons  $\text{Sr}^{2+}$  em  $\text{pH} = 6,0$  altera a formação de cristais, afeta sua cristalização, influencia o equilíbrio iônico na geminação e nucleação do cristal formando mesocristais com aparecimento de fases preliminares de brushita e monetita com morfologias em placas e/ou pétalas, induzindo posteriormente ao processo de auto-organização e orientação preferencial no plano (020) da HAP monoclínica com crescimento até estágio final de hábito cristalino pseudo-hexagonal. Em meios com  $\text{pH} = 7$  e  $8$  há cristalização de nanoesferas de hidroxiapatita nucleadas a partir de incorporação não supersaturada de íons  $\text{Sr}^{2+}$ .

**Palavras-chave:** fosfatos de cálcio, substituição iônica, biocerâmicas, hidroxiapatita.

## ABSTRACT

### **Effect of strontium substitution on the morphology of calcium phosphates crystals and polymorphism of the hexagonal and monoclinic hydroxyapatite**

Through the addition of strontium ions ( $\text{Sr}^{2+}$ ), this study aims at controlling synthesis parameters in the formation of morphologies and crystallographic phases of calcium phosphate. A study was conducted on the composition, structure, formation of hard tissues and the group of materials related to them, as well as its growth and the formed crystal structures related to natural biomineralization and its biomimicry influenced by ionic substitutions. The synthesis, through chemical precipitation of enhanced solutions, was the reaction between the solutions of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  precipitated with  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  with Ca/P = 1.67 and 19 at.%, 40 at.% and 53 at.% of  $\text{Sr}^{2+}$  ions in the acidic to basic pH = 6, 7 and 8. The samples were characterized through X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy of X-ray (EDS). XRD analysis found the brushite crystallographic phases (DCPD), monetite (DCP), monoclinic and hexagonal hydroxyapatite (HAP). The supersaturated adding of  $\text{Sr}^{2+}$  ions at pH 6.0 alters crystal formation, affects its crystallization, influences the ionic balance in the germination and nucleus of the crystal, forming mesocrystals with preliminary phases of brushite and monetite with plate and/or petal morphologies. Thus leading to the process of self-organization and preferential orientation on plan (020) from the monoclinic HAP with final stage growth of pseudo hexagonal habit. Whereas, pH=7.0 and 8.0 induces the crystallization of nucleated hydroxyapatite nanospheres from the non-supersaturated addition of  $\text{Sr}^{+2}$  ions.

**Keywords:** calcium phosphates, ionic substitution, bioceramics, hydroxyapatite.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Evolução da área de biomateriais cronologicamente por tecnologias e propriedades de interesse e seus relativos materiais (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005).....	1
Figura 2: Primeiro esquema estrutural atômico da fase mineral dos ossos conhecida como carbonatoapatita (WELLS, 1906).....	2
Figura 3: Modelo de estrutura cristalográfica de HAP de osso, a partir de resultados de método Rietveld, do relatório semestral de estágio de iniciação científica de Rabelo J.S. orientado por Valério M.E.G. no Departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe-UFS (2006) (JOSÉ DA SILVA RABELO NETO, 2006).....	7
Figura 4: Estrutura óssea, nível um, componentes principais. Cristais de osso humano (esquerda) e parte orgânica de fibras colágenas de tendão vistas por MET (direita) (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	13
Figura 5: Estrutura óssea, nível dois, mineralização das fibras colágenas de tendão vistas por MET (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	13
Figura 6: Estrutura óssea, nível três, conjunto de fibrilas de secção fina de tendão visto por MET (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	14
Figura 7: Estrutura óssea, nível quatro, padrões de arranjos de matrizes de fibrilas colágenas encontrada em materiais ósseos (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	14
Figura 8: Estrutura óssea, nível cinco, micrografia de cilíndricos - osteons de osso humano (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	15
Figura 9: Estrutura óssea, nível seis, micrografia óptica de secção de fratura em osso fossilizado de fêmur (5500 anos) (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	15
Figura 10: Estrutura óssea, nível sete, osso bovino (escala de 10 cm) (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007). ....	16
Figura 11: Organização estrutural do osso humano de escala macro, micro até nanométrica. Apresenta estrutura compacta ou esponjosa com o sistema Haversiano em volta de canais osteônicos até a escala nanométrica com lamelas, a rede de fibras orgânicas e os nanocristais de hidroxiapatita (adaptado) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI <i>et al.</i> , 2013). ....	18
Figura 12: Esquema ilustrando a mineralização de tendão. Os bastões cilíndricos com 1,23 nm de diâmetro são os envolvidos por fibrilas com espaçamento de 67 nm separada por vazios de 40 nm entre as fibras e a zona de sobreposição de 27 nm. O espaçamento entre as unidades de tropocolágeno é de 0,24 nm. A parte mineralizada é vista como estriações e os cristais da parte mineralizada são orientados cristalograficamente no sentido do eixo-c paralelamente ao longo do plano (100) (adaptado) (OLSZTA, CHENG <i>et al.</i> , 2007).....	19
Figura 13: Transformações de fases de fosfatos de cálcio intermediárias como as fases brushita (DCPD), octacálcio (OCP), monetita (DCPA) na formação de hidroxiapatita (HAP) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI <i>et al.</i> , 2013).....	26

Figura 14: Variação do pH e de concentrações iônicas em equilíbrio triprotônico de soluções de ácido fosfórico. Os diferentes pHs alteram as concentrações relativas das quatro formas protônicas do ácido fosfórico (WANG E NANCOLLAS, 2008). .....	28
Figura 15: Imagens de MEV de brushita sintetizadas entre pH=5,5 e 7,0 hábito cristalino tabular relatado na literatura e idêntico aos formados nesta tese sem ou com baixa inserção de Sr (TOSHIMA, HAMAI <i>et al.</i> , 2014). .....	29
Figura 16: Imagens de MEV de brushita sintetizadas em pH=5 com hábito cristalino em pétalas relatado na literatura e similar as sintetizadas nesta tese (TOSHIMA, HAMAI <i>et al.</i> , 2014). .....	30
Figura 17: Estrutura cristalina de HAP carbonatada, mostrando acomodações de carbonatos como impureza na rede do cristal que provoca defeitos no cristal (FLEET, LIU <i>et al.</i> , 2004). .....	31
Figura 18: Incorporação de carbonatos ( $CO_3^{2-}$ ) na HAP-carbonatada, representados pelas esferas de cor preta na rede cristalina (FLEET, LIU <i>et al.</i> , 2004). .....	31
Figura 19: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio (Fosfato Dicálcio Anidro (DCPA), Fosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD), Fosfato de Octacálcio (OCP), Fosfato de Tricálcio da fase $\alpha$ ( $\alpha$ -TCP), Fosfato de cálcio de Tricálcio da fase $\beta$ ( $\beta$ -TCP), Hidroxiapatita (HAP) e Fosfato de Tetracálcio (TTCP). Cada curva no diagrama, conhecido como isotermas de solubilidade, podem ser calculados a partir da constante de solubilidade ( $K_{sp}$ ) do material. As isotermas descrevem a solubilidade do sal, expresso pela concentração de cálcio e fosfato totais que são saturados na solução em função do pH com temperatura e pressão fixas (CHOW, 2009). .....	33
Figura 20: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio (Fosfato Dicálcio Anidro - Monetita (DCPA), Fosfato de Cálcio Dihidratado - Brushita (DCPD), Fosfato de Octacálcio (OCP), Fosfato de Tricálcio da fase $\alpha$ ( $\alpha$ -TCP), Fosfato de cálcio de Tricálcio da fase $\beta$ ( $\beta$ -TCP), Hidroxiapatita (HAP) e Fosfato de Tetracálcio (TTCP) em duas dimensões, onde um sal cuja isotérmica que se encontra abaixo de outro sal é menos solúvel (mais estável) a degradação do mesmo em meio aquoso em função de determinado pH. O ponto em que duas isotérmicas se cruzam é conhecido como ponto singular. A solução no ponto singular é simultaneamente saturada para ambos os sais (adaptado) (CHOW, 2009). .....	34
Figura 21: Pacote de aglomerado de fosfato de cálcio amorfo (FCA), gerador de nucleação de fosfatos de cálcio (adaptado) (POSNER, BETTS <i>et al.</i> , 1980). .....	36
Figura 22: Cinéticas de transformações FCA - fases cristalinas. 1 - precipitação, 2 - Início da nucleação (mudanças abruptas no pH tem relação com as mudanças nas concentrações do cálcio e fosfato). 3 - Soluções mediadas pelo crescimento e amadurecimento das fases cristalinas (ŠIKIRIĆ E FÜREDI-MILHOFFER, 2006). .	36
Figura 23: Ilustração da literatura de esquema de processo geral a partir do precursor DCPD em HAP através de DCP texturizada. O precursor DCPD foi preparado em gel contendo íons de fosfatos. A nanotexturização foi obtida pela desidratação do precursor DCPD. A estrutura da HAP em nanoescala consiste	

da texturização das partículas e fibras formadas da hidrólise a pH 13,6 e 10,0, respectivamente (adaptado) (CÖLFEN E ANTONIETTI, 2008; FURUICHI, OAKI <i>et al.</i> , 2006).....	39
Figura 24: As estruturas atômicas da HAP do sistema monoclinico (a) ao longo do plano [110] e HAP do sistema hexagonal (b) ao longo do plano [-1100], respectivamente. Os íons OH ilustram a diferença primária das duas estruturas com a determinação das simetrias morfológicas inseridas no canto inferior direito (MA, G. B. E LIU, X. Y., 2009).....	40
Figura 25: A principal diferença entre as estruturas é a localização dos átomos de oxigênio que originam os OH (adaptado) (SLEPKO E DEMKOV, 2011).....	41
Figura 26: Visão superior da célula primitiva da HAP do sistema hexagonal nas direções <i>x</i> e <i>y</i> em que a coluna de OH é o centro retratado na célula. Os sítios de Ca <sub>II</sub> em verde escuro e as moléculas PO <sub>4</sub> estão centralizadas em Z = 0,25c e os sítios Ca <sub>II</sub> em verde mais claro estão centralizados em Z = 0,75c. A coluna de OH é rodeada por seis átomos de Ca <sub>II</sub> e seis moléculas de PO <sub>4</sub> . Os átomos no sítio de Ca <sub>I</sub> estão nas extremidades da célula (SLEPKO E DEMKOV, 2015).....	41
Figura 27: Ilustração, de Matsunaga <i>et al.</i> , de célula unitária primitiva de HAP com um total de 44 átomos, em que contém dois sítios de cálcio equivalentes [Ca(I) e Ca(II)], um sítio de P, quatro sítios diferentes de oxigênio [O(I), O(II), O(III) e O(IV)], e um sítio de H localizado ao longo do eixo-c. Os átomos de P formam o tetraedro PO <sub>4</sub> com O(I), O(II) e dois átomos O(III), ligados ao tetraedro via Ca(I) e/ou Ca(II) ao longo do eixo-c. No caso o Ca(I) é coordenado por três átomos O(I) e três átomos O(II) com tamanho de ligação de 0,24nm, enquanto o Ca(II) tem coordenação com um átomo O(II), quatro átomos O(III), e um átomo o(IV) (MATSUNAGA E KUWABARA, 2007).....	42
Figura 28: Padrões vistos na literatura, em (a) padrão SAED de nanobastão de monocristal de HAP e simulações de padrão de difração de elétrons de estruturas de (b) HAP do sistema monoclinico e (c) HAP do sistema hexagonal, respectivamente. Os pontos de difração estão indexados pelos valores <i>hk</i> (hki para a HAP hexagonal) acima dos padrões e valores <i>l</i> (XUE, SHI <i>et al.</i> , 2010). .	42
Figura 29: Os perfis (100) em azul, (001) em vermelho e (102) em verde são obtidos do plano (010) <sub>A</sub> . Vale salientar que os grupos OH são orientados de cima para baixo dentro das fatias d <sub>100</sub> e d <sub>102</sub> , enquanto que eles se alternam (todos para cima ou para baixo) dentro das fatias adjacentes d <sub>002</sub> , estas diferenças que determinam qual hidroxiapatita se forma: a monoclinica ou a hexagonal (Aquilano, Bruno <i>et al.</i> , 2014).....	44
Figura 30: Esquema de diferentes modos de cristalização de materiais e seus mecanismos de formação (adaptado) (LIU, ZHANG <i>et al.</i> , 2014). .....	46
Figura 31: Ilustração de mesocristais encontrados em biominerais da natureza e materiais compósitos biomiméticos e coloidais. As imagens correspondem ao osso (biominerais, apatita), bactéria magneto tática (biominerais, magnetita), fluorapatita-gelatina (materiais biomiméticos, apatita), espículas de calcita (materiais biomiméticos, calcita), e nanocubos de maghemita (nanopartículas auto-organizáveis, óxido de ferro) (adaptado) (BERGSTRÖM, STURM <i>et al.</i> , 2015).....	47

Figura 32: Observações experimentais e simulações de nanocompósito fluorapatita-gelatina. (a) Imagem de MEV de cristal prismático hexagonal, (b) padrão de difração de raios-X (c), imagem de MET ao longo do eixo [001], (d) superestrutura com arranjo periódico de 10 nm, (e) subunidades nanométricas ao longo da cadeia, (f) Imagem de MET mostrando complexidade do padrão incorporado nas microfibras de gelatina e (g) Imagens mostrando a distribuição de potenciais elétricos em torno do compósito (adaptado) (KNIEP, SIMON <i>et al.</i> , 2014).....	48
Figura 33: Arranjos de nanopartículas em materiais cristalinos com diferentes arranjos estruturais. No caso do monocristal Fm3m as nanopartículas são estabilizadas por moléculas orgânicas (encapsulamento azul) e arranjos em uma superestrutura de rede CFC. O mesocristal tipo I é um cristal colóide com nanocristais monodispersos e que se confunde com monocristal quando do uso de difração de raios-X a baixo ângulo (1) ou pelo padrão de textura (2) na região de maior ângulo e o tipo II, tem uma orientação polidispersa de nanocristais com possível grau de orientação incompatível, mas mesmo assim apresenta um padrão de difração simétrico (adaptado) (BERGSTROM, STURM <i>et al.</i> , 2015)....	49
Figura 34: Diferentes processos de nucleação e cristalização de sólidos. Por exemplo, crescimentos clássicos de cristal, meios mais complexos e específicos por alinhamento de alta ordem a partir de multi-íons formando nanoestruturas. A visualização final do <i>bulk</i> do cristal representa um estado de monocristal (adaptado) (DE YOREO, GILBERT <i>et al.</i> , 2015). ....	50
Figura 35: Representação dos movimentos das partículas em função das mudanças de forças que influenciam suas ligações (adaptado) (DE YOREO, GILBERT <i>et al.</i> , 2015). ....	51
Figura 36: Gráfico em log-log do Módulo de Young (grau de rigidez) e a densidade de osso esponjoso e cortical de materiais naturais, sintéticos e compósitos que podem ser usados como substitutos ósseos e dentários no gráfico maior e no gráfico menor, o módulo de Young (escala linear) plotado contra a porcentagem em peso de parte mineral total de amostras secas de osso cortical de animais. Todas as amostras foram de fêmur ósseo, exceto onde for especificado. Há uma correlação direta entre a porcentagem de mineral e o grau de rigidez. É notado um aumento significativo na mineralização entre o homem de 5 e o de 35 anos com notável aumento da rigidez (adaptado) (PASTERIS, WOPENKA <i>et al.</i> , 2008).....	53
Figura 37: Gráfico de ductilidade à fratura versus módulo de Young de materiais naturais e também sintéticos usados na área de implantes. Muitos deles apresentam propriedades mecânicas elevadas como o titânio e a zircônia, porém importante é a relação tenacidade e sua rigidez e não apenas o mais elevado em apenas um deles. (adaptado) (WEGST, SCHECTER <i>et al.</i> , 2010).....	54
Figura 38: Estrutura hierárquica da concha de abalone: No primeiro nível tem-se mesocamadas de ~300 µm de espessura, separada por 20 µm de material orgânico. As camadas de ~300 µm são compostas por placas de aragonita (CaCO <sub>3</sub> ortorrômbico) (95 %p) mantendo-os juntos por uma camada de 10-50 µm de biopolímero (5 %p) e por pontes minerais de ~50 nm. As placas	

hexagonais, com 8-10 $\mu\text{m}$ de comprimento e $\sim 0,4 \mu\text{m}$ de espessura, cresce na direção do eixo-c da face (001). Entre as camadas orgânicas e as placas estruturadas como sanduíche comprimido como um núcleo central de fibras de quitina e as camadas superficiais com poros com diâmetro de 5-80 nm (CHEN, MCKITTRICK <i>et al.</i> , 2012).....	56
Figura 39: Forças de compressão oriundas das anisotropias microestruturais. (a) o osso cortical tem uma microestrutura lamelar retorcida como madeira compensada. (b) o nácar da abalone segue uma microestrutura com morfologia tipo parede de tijolos e argamassa (PORTER E MCKITTRICK, 2014).....	57
Figura 40: Na concha de abalone (a), o nácar consiste de crescimento de cristais com hábito pseudo-hexagonal de aragonita. (b) pilhas de cristais com hábito hexagonal ligeiramente alongada na diagonal A-D comum a todos na pilha (adaptado) (MUKAI, SARUWATARI <i>et al.</i> , 2010).....	58
Figura 41: Imagem de minério de hematita rosa, que tem sistema monoclinico, com crescimento similar em espiral do tipo empilhamento de moedas em camadas, formando o hábito cristalino pseudo-hexagonal (MATTEO, 2008).....	59
Figura 42: Múltiplos cristais de moscovita do sistema monoclinico com crescimento similar em espiral do tipo empilhamento de moedas em camadas e formando o hábito cristalino pseudo-hexagonal (ZE PINTO PROSPECT). ....	59
Figura 43: Em (A) tem-se a sequência de ação do estrôncio (Sr) na formação óssea através da estimulação dos osteoblastos e ao mesmo tempo a inibição da reabsorção óssea. Esta ação nos osteoblastos ocorre pela ativação do sensor chamado (CaSR), onde o mesmo sensor poder induzir apoptose (morte) celular pelos osteoclastos e diminuir a reabsorção óssea. Pela via (B), o estrôncio atua no fator chamado Wnt que ativa fatores de crescimento fibroblásticos eproteoglicanos nas células osteoblásticas (adaptado) (BOSE, FIELDING <i>et al.</i> , 2013).....	64
Figura 44: Estrutura da célula unitária de HAP vista ao longo do eixo-c e os respectivos sítios de Ca-1 e Ca-2 (MATSUNAGA, INAMORI <i>et al.</i> , 2008).....	65
Figura 45: Posições atômicas em torno do sítio Ca-1. Os primeiros sítios da VP de oxigênio estão representados pelas linhas contínuas e a segunda VP pelas linhas pontilhadas (MATSUNAGA, INAMORI <i>et al.</i> , 2008). ....	66
Figura 46: Posições atômicas em torno do sítio Ca-2. Os primeiros sítios da VP de oxigênio estão representados pelas linhas contínuas e a segunda VP pelas linhas pontilhadas (MATSUNAGA, INAMORI <i>et al.</i> , 2008). ....	66
Figura 47: As distâncias interatômicas dos íons Ca na vizinhança dos íons de oxigênio em relação ao raio atômico dos cátions substitucionais. Os círculos abertos representam a VP do Ca-1 e os quadrados abertos representam a VP nos oxigênios (adaptado) (MATSUNAGA, INAMORI <i>et al.</i> , 2008).....	68
Figura 48: Gráfico de energia de formação substitucional de cátions divalentes versus raio iônico. Neste caso, a energia de formação corresponde a experimentos em pH = 7,0. A quebra da curvatura parabólica é desenhada para realçar a tendência geral das energias de formação contra o raio iônico (adaptado) (MATSUNAGA, MURATA <i>et al.</i> , 2010).....	69



Figura 49: Concentração de íons $\text{Ca}^{2+}$ em solução aquosa saturada em função do pH (adaptado) (MATSUNAGA, MURATA <i>et al.</i> , 2010).	70
Figura 50: Fluxograma ilustrativo dos procedimentos de produção de fosfato de cálcio.	73
Figura 51: Fluxograma ilustrativo dos procedimentos de produção de fosfato de cálcio com substituição iônica por estrôncio.	75
Figura 52: Exemplo de procedimento experimental para coleta de dados de EDS de cada morfologia encontrada nas amostras. Foram feitas de 80 a 100 medidas de cada grão com a mesma morfologia.	77
Figura 53: Difratogramas de amostras sintetizadas em pH=6,0. Visualização de fases cristalográficas: brushita - DCPD (PDF 00-011-0293), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP ( $\text{P}_2/\text{c}$ ) (PDF 01-076-0694).	78
Figura 54: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em pH=6. Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados.	80
Figura 55: Difratograma da amostra sintetizada em pH=6 sem adição de estrôncio. Visualização de fase cristalográfica brushita - DCPD (PDF 00-011-0293) e monetita - DCP (PDF 01-070-1425).	81
Figura 56: Imagens de MEV de amostras sem adição de estrôncio em pH=6, cristalizou-se o fosfato de cálcio brushita-DCPD e monetita-DCP. Vê-se o hábito cristalino tabular, comum destas fases relatado por outros autores como visto na (Toshima, Hamai <i>et al.</i> , 2014).	82
Figura 57: Imagens de MEV de amostras sem adição de estrôncio em pH=6, cristalizou-se o fosfato de cálcio brushita-DCPD e monetita-DCP. Vê-se o hábito cristalino tabular, comum destas fases relatado por outros autores como visto na (Toshima, Hamai <i>et al.</i> , 2014).	83
Figura 58: Difratograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% Sr em pH=6 na solução de partida e inserção de ~4 at.% Sr no sólido formado. Visualização das fases cristalográficas de brushita - DCPD (PDF 00-011-0293) e monetita - DCPA (PDF 01-070-1425).	84
Figura 59: Imagens de MEV da amostra da solução de partida com ~19 at.% Sr em pH=6 e incorporação de ~4 at.% Sr no sólido formado com arranjo de cristais com hábito cristalino em pétalas.	85
Figura 60: Difratograma de amostra com solução de partida com 40 at.% Sr em pH=6. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-011-0293), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclínica (PDF 01-076-0694).	86
Figura 61: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% em pH=6, com visualização de formação de cristal com hábito pseudohexagonal lamelar quando da inserção de ~18 at.% Sr no sólido formado e com hábito cristalino em pétalas, como na amostra anterior, com inserção de ~7 at.% Sr nos cristais obtidas dentro da rede de cada cristais, formando diferentes hábitos cristalinos.	87
Figura 62: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% em pH=6, com visualização de formação de cristal com hábito	

pseudohexagonal lamelar quando da inserção de ~18 at.% Sr dentro da rede deste cristal e formando este hábito cristalino. ....	88
Figura 63: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% Sr em pH=6. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclinica (PDF 01-076-0694). ....	88
Figura 64: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6. Visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudohexagonal com inserção de ~28 at.% Sr dentro da rede deste cristal.....	90
Figura 65: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6. Visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudohexagonal com inserção de ~28 at.% Sr dentro da rede destes cristais. .	91
Figura 66: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6 com inserção de ~28 at.% Sr nos cristais com hábito pseudohexagonal. Visualização de formação de cristais com morfologia hexagonal, com duas formas visivelmente subsequentes de crescimento do cristal. ....	92
Figura 67: Desenho representativo dos ângulos e simetrias em amostra de cristal com hábito pseudohexagonal de síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6 e inserção de ~28 at.% Sr , o prolongamento das aristas do cristal visto na primeira imagem da Figura 66, como representado no pontilhado acima, enfim formando o cristal na segunda imagem do esquema da Figura 66. ....	93
Figura 68: Geminação em camadas de HAP de sistema monoclinico por crescimento em espiral do tipo empilhamento de moedas, em camadas presentes nos cristais crescidos nas sínteses dos experimentos desta tese. ....	95
Figura 69: Difratoogramas de amostras sintetizadas em pH=7 com fases cristalográficas hidroxiapatita - HAP ( $P6_3/m$ ) pura (PDF 01-071-5049) e HAP-Sr (PDF 00-034-0483), brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694). ....	96
Figura 70: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em pH=7. Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados. ....	97
Figura 71: Difratoograma da amostra sem adição de estrôncio (Sr) em pH=7. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita - HAP ( $P6_3/m$ ) (PDF 01-071-5049). ....	98
Figura 72: Imagens de MEV da amostra da síntese sem adição de estrôncio (Sr) em pH=7, com visualização de fase tipicamente pouco cristalizada de hidroxiapatita - HAP do sistema hexagonal.....	99
Figura 73: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% Sr em pH=7 e inserção de ~11 at.% Sr na amostra final. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr do sistema hexagonal (PDF 00-034-0483). ....	100
Figura 74: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em pH=7 e inserção de ~11 at.% Sr na amostra final (sólido formado),	

com visualização de fase tipicamente amorfa de hidroxiapatita com estrôncio HAP-Sr do sistema hexagonal .....	101
Figura 75: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% e inclusão de ~29 at.% Sr em pH = 7 com brushita - DCPD (PDF 01-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP (P2 <sub>1</sub> /c) monoclinico (PDF 01-076-0694).....	102
Figura 76: Difratoograma da amostra da síntese com 53 at.% em pH=7 com brushita - DCPD (PDF 01-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclinico (P2 <sub>1</sub> /c) (PDF 01-076-0694).....	103
Figura 77: Imagem de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% Sr em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudo hexagonal. ....	104
Figura 78: Imagem de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação do hábito cristalino pseudo hexagonal .....	104
Figura 79: Ampliação da imagem de MEV da Figura 78, da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação do hábito cristalino pseudo hexagonal.....	105
Figura 80: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr na nanoesfera (sólido formado), não secadas, com visualização de formação de nanoesferas de HAP .....	106
Figura 81: Difratoogramas de amostras sintetizadas em pH=8 com fases cristalográficas hidroxiapatita - HAP - (P6 <sub>3</sub> /m) (PDF 00-009-0432), hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr- (P6 <sub>3</sub> /m) (PDF 01-089-5631), brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita-HAP monoclinica (P2 <sub>1</sub> /c) (PDF 01-076-0694).....	107
Figura 82: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em pH=8. Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados. ....	108
Figura 83: Difratoograma da amostra sem estrôncio (Sr) em pH=8. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita - HAP (P6 <sub>3</sub> /m) do sistema hexagonal (PDF 00-009-0432). ....	109
Figura 84: Imagens de MEV da amostra sem adição de estrôncio (Sr) em pH=8, com visualização de fase tipicamente pouco cristalizada de hidroxiapatita - HAP do sistema hexagonal. ....	110
Figura 85: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em pH=8 e inserção de ~13 at.% Sr no sólido formado. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr (P6 <sub>3</sub> /m) do sistema hexagonal (PDF 01-089-5631). ....	111
Figura 86: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em pH=8 e inserção de ~13 at.% Sr nas nanoesferas. Visualização de nanoesferas de fosfatos de cálcio HAP-Sr (P6 <sub>3</sub> /m) de sistema hexagonal. ....	112
Figura 87: Difratoograma da amostra da síntese com 40 at.% em pH=8. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077),	

monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e HAP de sistema monoclinico ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).....	113
Figura 88: Imagens de MEV da amostra da síntese com 40 at.% em pH=8 e inserção de ~27 at.% Sr com hábito cristalino pseudo-hexagonal. ....	114
Figura 89: Difratoograma da amostra da solução de partida com 53 at.% em pH=8 e ~34 at.% Sr no sólido formado. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e HAP monoclinico ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).....	115
Figura 90: Imagens de MEV da amostra da solução de partida com 53 at.% e inserção de ~34 at.% Sr no sólido formado em pH=8 com camadas de hábito cristalino pseudo-hexagonal se desprendendo. ....	115
Figura 91: Representação de arranjo replicado e transladado da célula base de HAP com inclusão de íons Sr em 50% dos sítios de cálcio em torno da coluna ordenada de OH. ....	117
Figura 92: Replicação do arranjo representado na Figura 91 que ocorre sucessivamente no crescimento do cristal com hábito pseudo-hexagonal a nível atômico desde sua nucleação até o cristal final micrométrico porquanto replicações sejam necessárias até o cristal final estabilizado.....	118

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ortofosfatos de cálcio e suas principais propriedades (adaptado) (DOROZHKIN, 2010b). .....	21
Tabela 2: Principais tecnologias e usos científicos da apatita (RAKOVANE PASTERIS, 2015). .....	22
Tabela 3: Diversos métodos de síntese de nanopartículas de hidroxiapatita (adaptado) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI <i>et al.</i> , 2013). .....	25
Tabela 4: Controle de crescimento de cristais e seus efeitos no bulk e na superfície dos cristais (WANG E NANCOLLAS, 2008). .....	26
Tabela 5: Família de fosfatos de cálcio e suas respectivas constantes de solubilidade a 25°C (adaptado) (CHOW, 2009). .....	35
Tabela 6: Funções de íons metálicos e seus mecanismos de ação no sistema corpóreo (adaptado) (BOSE, FIELDING <i>et al.</i> , 2013). .....	61
Tabela 7: Quantificação de at.% de $\text{Sr}^{2+}$ usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons $\text{Ca}^{2+}$ e $\text{Sr}^{2+}$ em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em pH = 6. ....	80
Tabela 8: Quantificação de at.% de $\text{Sr}^{2+}$ usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons $\text{Ca}^{2+}$ e $\text{Sr}^{2+}$ em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em pH = 7. ....	97
Tabela 9: Quantificação de at.% de $\text{Sr}^{2+}$ usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons $\text{Ca}^{2+}$ e $\text{Sr}^{2+}$ em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em pH=8. ....	108

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^{18}\text{F}$  - fluor-d-deoxiglucose.

$^{18}\text{F}$  - FDG - fluor-d-deoxiglucose em substrato de hexoquinase.

$^{18}\text{F}$  -  $\text{NaF}_2$  - fluor-d-deoxiglucose em substrato de fluoreto de sódio.

$\alpha$ -TCP - Alpha tricalcium phosphate.

ACP - Amorphous Calcium Phosphate.

$\beta$ -TCP - Beta tricalcium phosphate.

CDHA - Calcium-deficient hydroxyapatite.

DCPD - Dicalcium phosphate dihydrate (brushite).

DCPA - Dicalcium phosphate anhydrous (monetite).

DRX - Difração de raios-X.

ES - Elétrons secundários.

ER - Elétrons, retroespalhados.

EDS - Energy-dispersive X-ray spectroscopy.

FA ou FAp - Fluorapatita.

FDA - Food and Drug Administration.

GSK3 - glocogênio sintase quinase 3.

HAP, OHAP, HAp ou HA - Hidroxiapatita.

LSS - Método líquido-sólido-solução.

MEV - Microscopia eletrônica de varredura.

MCPM - Monocalcium phosphate monohydrate.

MCPA - Monocalcium phosphate anhydrous.

MO - Microscopia óptica.

OCP - Octacalcium phosphate.

OPG - proteína que inibe RANKL.

MET - Microscópio eletrônico de transmissão.

PDF - Powder diffraction file.

PET - Positron emission tomography.

PTH - ativador de várias vias de sinalização.

RANKL - ligante de atividade osteoclástica.

ROS - espécie reativa de oxigênio.

SAED - Selected area electron diffraction.

SLF - Sistema de liberação de fármacos.

TCP - Tricalcium phosphate (whitelockite).

TTCP ou TetCP - Tetracalcium phosphate (hilgenstockite).

VEGF - fator de crescimento entotelial vascular.

Wnt - via de sinalização intracelular associada à formação de tecidos.

## LISTA DE SÍMBOLOS

Ca/P - relação cálcio por fósforo.

$d$  - distância interplanar em um cristal.

$E$  - energia de um fóton.

$h$  - constante de Planck.

$I$  - força iônica.

$K_{\beta}$  - representação de emissão K beta de transição eletrônica energética.

$K_{\alpha}$  - representação de emissão K alfa de transição eletrônica energética.

$\lambda$  - comprimento de onda

$\nu$  - frequência eletromagnética.

$S$  - Supersaturação.

$\sin$  - função trigonométrica.

$T$  - temperatura.

$|X|$  - concentração de aditivos.

## LISTA DE EQUAÇÕES

$$\Delta H_f = Et_{\text{defeituoso}} - Et_{\text{perfeito}} + \mu Ca_2 + -\mu M_2 + \quad (1) \dots\dots\dots 69$$

$$\Delta H_f = Et_{\text{defeituoso}} - Et_{\text{perfeito}} + \mu Ca_2 + -\mu Sr_2 + \quad (2) \dots\dots\dots 70$$



# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	10
2.1 Objetivo Geral .....	10
2.2 Objetivos Específicos .....	10
3 HIPÓTESE.....	11
4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE.....	12
4.1 Composição, Estrutura e Formação de Tecidos Duros (Ossos e Dentes).....	12
4.2 Ortofosfatos de Cálcio .....	20
4.3 Crescimento e Estrutura de Cristais de Fosfatos de Cálcio .....	23
4.4 Biomimetismo e biomineralização .....	45
4.5 Substituições iônicas em rede cristalina da hidroxiapatita (HAP) e aplicações.....	60
5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	72
5.1 Síntese de fosfato de cálcio hidroxiapatita (HAP) .....	72
5.2 Síntese com substituição iônica por estrôncio ( $\text{Sr}^{2+}$ ) .....	74
5.3 Difração de raios-X (DRX) .....	76
5.4 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) .....	76
5.5 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	76
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	78
6.1 Amostras sintetizadas em pH=6,0 .....	78
6.2 Amostras sintetizadas em pH=7,0 .....	96
6.3 Amostras sintetizadas em pH=8,0 .....	106
7 CONCLUSÕES.....	119
8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	121
9 REFERÊNCIAS .....	122



# 1. INTRODUÇÃO

A ciência e engenharia de materiais em saúde humana e/ou animal é uma área com muitos desafios, com importantes questões a serem respondidas, sendo ainda mais importante entendê-las ao nível de alcançar o controle de seus processos científica e tecnologicamente para o desenvolvimento de produtos inovadores que sejam aplicáveis para a melhoria da qualidade de vida das pessoas, cujo objetivo é a prevenção e cura de enfermidades. Nos últimos 50 anos foram alcançados avanços tecnológicos inovadores em materiais biomédicos, dentre eles as cerâmicas para reparos ósseos na regeneração de sistemas esqueléticos.

Produtos gerados com estes materiais aumentam a expectativa de vida e inclusão social dos seres humanos, o que ocasiona o incremento da qualidade de vida (Dorozhkin, 2010b). Cerâmicas com aplicações em saúde são normalmente conhecidos como biocerâmicas, esta classe de material sempre foi muito estudada por impactar na melhora da saúde das pessoas. Com o exposto, vem ao longo do tempo sendo estudada e com significativo aumento em publicações nos últimos 20 anos (BEST, PORTER et al., (2008). Abaixo, há um histórico esquematizado por Murugan e Ramakrishna (2005), dos principais desenvolvimentos de biomateriais está cronologicamente esquematizado na Figura 1.

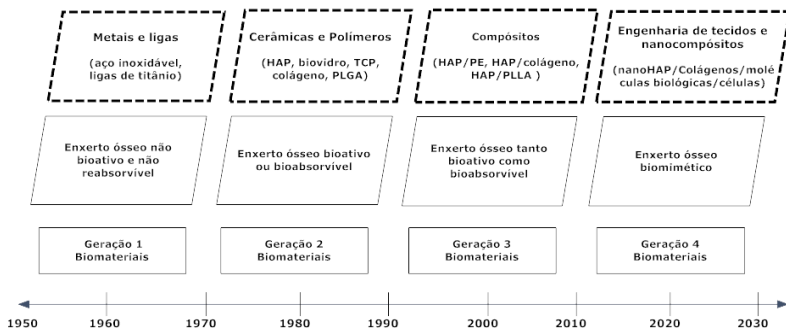


Figura 1: Evolução da área de biomateriais cronologicamente por tecnologias e propriedades de interesse e seus relativos materiais (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005).

Segundo Dorozhkin, (2013), o primeiro relato da constatação de existência de fosfato de cálcio em ossos ocorreu no ano de 1769, pelo físico-químico sueco Johan Gottlieb Gahn (1745-1818) e o químico

alemão-sueco Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) que, em 1775, comunicou à comunidade científica a comprovação experimental da mencionada substância em ossos. Apenas em 1790, em livro de Lavoisier, foi descrito o processo de produção de ácido ortofosfórico a partir da decomposição de ossos calcinados. Ocorre que somente em 1881 foi feita a primeira publicação sobre fosfato de cálcio em ossos (ROSCOE HE, SCHORLEMMER C. A. LONDON: MACMILLAN AND CO., 1881: 751). E a primeira representação de distribuição atômica da fase mineral dos ossos, conhecida como carbonatoapatita, ocorreu em 1906, representada pela figura 2 (DOROZHKIN, 2013b).

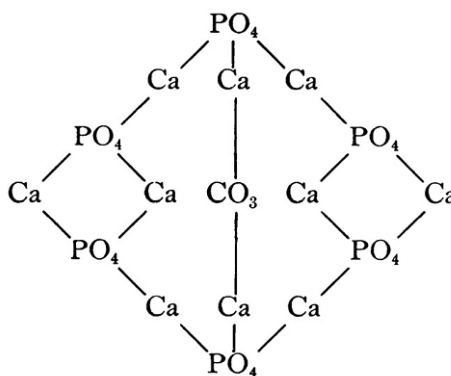


Figura 2: Primeiro esquema estrutural atômico da fase mineral dos ossos conhecida como carbonatoapatita (WELLS, 1906).

Os biomateriais foram introduzidos na área ortopédica na década de 60, chamada de geração 1. Eles apresentavam alta resistência à compressão e dureza, alta biocompatibilidade e adequada resposta tecidual, porém com mínima interação biológica com o tecido circundante e a preocupação única era com as propriedades mecânicas no uso em próteses metálicas inertes (exemplos: aço inoxidável e ligas de titânio). (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005)

Na geração 2, por volta da década de 80, buscou-se desenvolver materiais cerâmicos e poliméricos bioativos e bioabsorvíveis (exemplos: hidroxiapatita (HAP), biovidro, fosfato de tetracálcio (TCP), colágeno, L-ácido láctico-co-ácido glicólico (PLGA), etc.). Sobressaem-se nesta geração os materiais com ligações químicas com o osso, íons de superfícies interagindo com o fluido corporal e com o tecido circundante ao implante. (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005)

Na geração 3, buscou-se a junção das características tanto bioativas e bioabsorvíveis em um único material, definidos como compósitos (exemplos: HAP/colágeno, HAP/PLLA, etc.). (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005)

Na geração 4, tem-se biomateriais com características e propriedades superiores através da nanotecnologia e do biomimetismo que é definido como a aplicação de métodos, sistemas ou modelos visualizados na natureza para se projetar e construir novos sistemas de engenharia, materiais, compostos químicos com mais avançada tecnologia em engenharia de tecidos e nanocompósitos. Atualmente algumas pesquisas científicas estão neste estágio (exemplos: nanoHAP/colágeno, nanomateriais e microorganismos, moléculas biológicas) (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005).

As cerâmicas de fosfato de cálcio são conhecidas como bioativas e reabsorvíveis. Entre elas, a hidroxiapatita (HAP), que é o principal componente de ossos e dentes, é considerada uma cerâmica de fosfato de cálcio muito importante na área de biomateriais e engenharia de tecidos com diversas aplicações, como: sistemas de carreação e liberação de fármacos (SLF), suporte a catalisadores e cromatografia, recobrimento de próteses, enxertos ósseos, cimentos ósseos, preenchimento facial, globo ocular, diagnóstico de câncer, biocompósitos diversos, entre outros (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2005; XIA, GRANDFIELD *et al.*, 2011).

O osso é um tecido vivo com organização em camadas e com seus componentes em diferentes escalas de tamanho (macro e microestruturas) influenciados por fatores genéticos, metabólicos e mecânicos. O principal composto é a fase orgânica de fibras colágenas envoltas por cristais inorgânicos a base de cálcio. Este sistema serve de suporte e locomoção do nosso corpo, além de proteger os órgãos (coração, pulmões e outros órgãos protegidos pela caixa torácica). Porém, é um arcabouço corporal que se fragiliza e sofre fraturas com facilidade sob ações mecânicas externas.

Além disto, pode sofrer doenças degenerativas internamente ao longo dos anos de vida. Uma função muito importante do osso é responsável pela produção de tecidos específicos como o sistema de formação do sangue e a medula óssea. É um tecido que está em constante remodelamento, sendo degradado, reabsorvido e recriado (BEST, PORTER *et al.*, 2008, BARRERE, VAN BLITTERSWIJK *et al.*, 2006).

Por serem tipicamente multifuncionais, os materiais naturais envolvem, em especial, a otimização de suas funções mecânicas,

incluída a resistência a impactos ou a fraturas, bem como proteção e suporte ao corpo (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012).

Logo, por conta das características dos ditos materiais, a biologia e a ciência dos materiais perceberam a necessidade de estudá-los e, por isso, avançam rapidamente ao formar um campo com três áreas que se sobrepõem. Segundo Chen, Mckittrick *et al.* (2012), podem ser divididos em:

- I. Materiais naturais biológicos: estudo de materiais naturais (osso, pele, plumagem, etc.);
- II. Materiais biomiméticos ou bioinspirados: síntese de novos materiais, dispositivos e estruturas inspiradas na natureza;
- III. Biomateriais: aplicações dos materiais no âmbito da saúde humana ou animal (implantes, etc.) (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012).

Com isto, estas três vertentes precisam ser investigadas em conjunto nas pesquisas para melhor compreensão do processo de biomineralização como, por exemplo, para entender como se comporta a degradação óssea cuja uma das consequências é a osteoporose e tal estudo tem, paulatinamente, melhorado o conhecimento e entendimento das propriedades mecânicas do osso (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012).

Na linha de materiais biomiméticos ou bioinspirados, há diferentes modos de atuar, sendo possível alterar as composições dos materiais para ficarem parecidos com os naturais, modificar a estrutura hierárquica entre estas composições, criar diferentes formas de cristais dentro destas estruturas e até como elas se organizam no bulk (arranjo de planos atômicos mais internos que não sofrem alterações nas posições em razão da descontinuidade superficial, são denominadas camadas internas, de volume ou bulk) (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012).

Com ações e com controle destas características, é possível produzir em laboratório e na indústria materiais que mimetizam os vistos na natureza e consequentemente suas propriedades, pois, como dito por Roveri e Iafisco (2010):

materiais sintéticos podem imitar todas as características dos materiais e tecidos biológicos, a fim de otimizar suas interações e funcionalidades, porém alcançar a baixa densidade com resistência e dureza ideais como nos naturais é de alta complexidade. Químicos, biólogos, físicos e engenheiros surpreendem-se com o alto grau de sofisticação, miniaturização, organização hierárquica, hibridização, confiabilidade, eficiência, resistência e adaptabilidade caracterizados nos materiais naturais. (ROVERI E IAFISCO, 2010).

Desta forma, a análise dos materiais biológicos e bioinspirados requer conhecimentos tanto biológicos como de engenharia na busca do desenvolvimento de materiais produzidos pelo homem que desempenhe as funções dos materiais naturais. Portanto, é uma área fortemente multi e interdisciplinar e isto é imprescindível para o sucesso no desenvolvimento científico e tecnológico, conhecimentos específicos em distintas áreas da ciência. Como exemplos, temos: o conhecimento em farmacocinética na Farmácia, a biofísica e a física da matéria condensada na Física, a instrumentação e processos na Engenharia, a fisiologia e patologia nas ciências da saúde, a modelagem e programação dos sistemas embarcados, a bioquímica e biologia molecular na Biologia, a físico-química na Química.

O osso é um exemplo de material natural com extrema complexidade estrutural, enquanto que o nácar (madrepérola) exhibe propriedades similares com simplicidade estrutural, porém com mesma complexidade para ser biomimetizado pelo homem. Os problemas clássicos no design de materiais e seus desempenhos envolvem duas propriedades-chaves: resistência mecânica e tenacidade à fratura sendo nestes pontos que os sistemas naturais provêm inspirações. Enquanto que há 3 fatores importantes no design de novos materiais: composição química, nano/microestrutura e arquitetura. Materiais altamente mineralizados como o nácar e o esmalte dentário, minimizam o desgaste e propiciam proteção (WEGST, BAI *et al.*, 2015). Segundo *Wegst, Bai et al.* (2015), estas diferenças estruturais influenciam seu comportamento mecânico,

o ponto principal nestes materiais é que apresentam diferentes orientações estruturais geradas por camadas rígidas que resistem ao

desgaste e às penetrações na superfície, além de serem tenaz internamente. Suportando uma maior deformação, mas com uma ideal tenacidade à fratura (WEGST, BAI *et al.*, 2015).

A HAP natural é um fosfato de cálcio não-estequiométrico, menos cristalina e que pode se desenvolver e crescer mais rapidamente na presença de elementos químicos (íons) necessários ao meio corporal durante o crescimento do tecido ósseo em pequenas proporções. Estes diferentes íons, como por exemplo:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Si}^{4+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , tanto influenciam este crescimento no meio, como também, através de substituições iônicas, incorporam-se na estrutura atômica (rede cristalina) do osso. Eles também acarretam na modificação de composição do material e alteram sua solubilidade e cristalinidade e, mais ainda, ajudam na proliferação celular, síntese de colágeno, síntese de ácidos nucleicos e os efeitos farmacológicos na regeneração óssea (BOANINI, GAZZANO *et al.*, 2010b; CARL, WEI *et al.*, 2012; LINDAHL, XIA *et al.*, 2012).

Portanto, diferentes formas de síntese desta família de materiais são investigadas com incorporação de íons na tentativa de biomimetizar os materiais naturais tanto na composição química quanto na nano/microestrutura para, subsequentemente com estes fatores compreendidos, desenvolver a arquitetura final dos materiais ao imitar a natureza e otimizar suas funções.

A HAP cresce espontaneamente como flocos, fibras ou hastes, orientados ao longo do eixo-c cristalográfico no processo natural de mineralização. O modelo de célula unitária e seus eixos (a, b e c) de HAP de osso por método de refinamento Rietveld foi realizado durante estágio de iniciação científica de 2002 a 2006 do autor José da Silva Rabelo Neto e orientado pelo Prof. Dr. Mário Ernesto Giroldo Valério, representado na figura 3. Métodos de precipitação podem ser usados para sintetizar HAP nanométrica, mas de difícil controle morfológico (XIA, GRANDFIELD *et al.*, 2011).

O biomimetismo da hidroxiapatita, obtido por meio sintético, reproduz os processos de biomineralização, sendo, portanto, um campo de grande interesse, pois, há características importantes na biomineralização da apatita biológica que necessitam serem explorados e compreendidos. Isto posto, passa a ser imprescindível o estudo do tema, já que, a título de exemplo, um osso com alto grau de parte biomineral proporcionalmente à quantidade de colágeno, produz um osso com maior rigidez, porém mais quebradiço, pois naturalmente um



material resistente é invariavelmente quebradiço, enquanto que os duros são débeis.

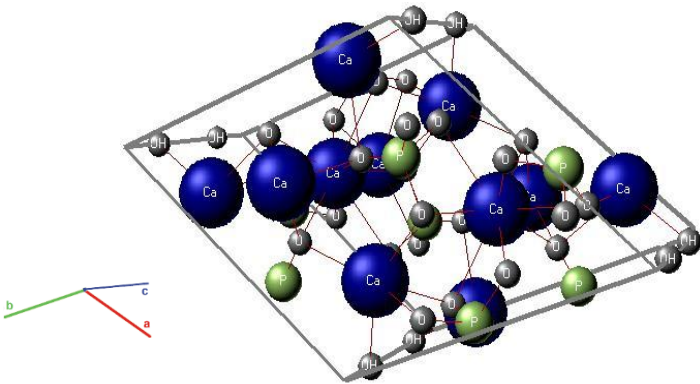


Figura 3: Modelo de estrutura cristalográfica de HAP de osso, a partir de resultados de método Rietveld, do relatório semestral de estágio de iniciação científica de Rabelo J.S. orientado por Valério M.E.G. no Departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe-UFS (2006) (JOSÉ DA SILVA RABELO NETO, 2006).

Importante destacar as palavras de Pasteris e Wopenka *et al.* (2008) ao considerar que:

no mesmo animal, há diferentes proporções de parte biomineral e colágeno. Como exemplo, o osso da perna de um bovino tem maior parte mineral (suporte) do que os chifres de um cervo que tem relativamente alta concentração de colágeno (flexibilidade). Esta relação tem consequências na dureza, resistência máxima e rigidez dos biomateriais naturais. No corpo humano, a dentina tem características similares ao osso, porém o esmalte do dente é extremamente diferente, pois apresenta uma quase falta total de colágeno com 96 %p de parte mineral. Desta forma o esmalte tem muito mais cerâmica e é mais frágil do que a dentina e o osso (PASTERIS, WOPENKA *et al.*, 2008).

O osso é um material compósito composto de microfibrilas colágenas e cristalitos de bioapatita. A organização desta matriz ocorre

em escala nanométrica, onde cada microfibrila tem um comprimento em torno de ~300 nm e espessura de ~4 nm, cada cristalito de hidroxiapatita cristaliza-se em nanoprismas e em seu estado final de hidroxiapatita carbonatada apresenta dimensões aproximadas de ~30x50x2 nm em forma de placas.

Por consequência, há que se abranger a área de biomateriais para melhor entendimento dos ossos. O que se percebe, então, é que, ao longo das últimas décadas, tem-se dado grande importância ao impacto da nanociência e da nanotecnologia no desenvolvimento de novos materiais para aplicações em saúde. A nanotecnologia é uma área multidisciplinar que envolve o design e a engenharia de nanomateriais. Segundo definição da comissão europeia, nanomaterial é um material natural, casual ou manufaturado contendo partículas em um estado desagregado ou agregado e/ou aglomerado com 50% ou mais das partículas em número de tamanho de distribuição com uma ou mais dimensões externas com intervalo entre 1 a 100 nm. Porém, em casos específicos, o limite de número de tamanho de distribuição pode ser substituído para entre 1 a 50%. Quando tecnicamente possível, um material pode ser abrangido por esta definição se a sua superfície específica por volume for superior a  $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ .

Atualmente, têm-se buscado avanços no desenvolvimento e aplicação de nanomateriais, especificamente de nanomateriais em saúde humana onde inúmeras pesquisas têm visado o desenvolvimento de biocerâmicas para desempenhar funções específicas, como por exemplo, na aplicação de diagnósticos de câncer e como carreadores e liberadores de moléculas para uso terapêutico (TAN, CHEANG *et al.*, 2007).

A estrutura física e química dos biomateriais é um fator primordial que determina as respostas celulares e diferentes reações de acordo com o tipo de aplicação biomédica. Diferenças nas características micro e/ou nanométrica que se apresentam no material ocasionam influências significativas no comportamento intracorpóreo, ocasionando diferentes reações como na morfologia, migração, adesão, proliferação e diferenciação *in vitro* e *in vivo* (TAN, CHEANG *et al.*, 2007). A HAP biológica é nanoestruturada e materiais nesta escala têm propriedades químicas, físicas e elétricas únicas, de forma que são importantes no desenvolvimento e na otimização de processos de preparação de nanoapatitas sintéticas.

No momento atual, tem-se dado muita importância a HAP em escala nanométrica (~10-100 nm) (TIRRELL, KOKKOLI *et al.*, 2002). O estudo da HAP em nanoescala é de grande interesse devido às possibilidades de sintetizar novas estruturas que possibilitem boas

interfaces do material com o meio biológico (MURUGAN E RAMAKRISHNA, 2004). Há atualmente a procura de se desenvolver partículas auto-organizáveis ou outros tipos de nanomateriais que melhorem as propriedades mecânicas e a biocompatibilidade dos biomateriais na área de implantes médicos, como exemplo incluem-se materiais nanocompósitos usados na odontologia, nano-hidroxiapatita usada em recobrimentos de próteses e enxertos ósseos (CASTNER E RATNER, 2002). No desenvolvimento de pasta de nanopartículas de HAP sintética como carreadoras de fármacos, pesquisadores usaram a HAP pobre ou bem cristalizada e observaram que a adsorção aumenta com o decréscimo da cristalinidade do material. Portanto é importante o estudo da área superficial, morfologia, cristalinidade, tamanho de cristalitos, porosidade, solubilidade e razão Ca/P neste material para um melhor entendimento do comportamento na adsorção de drogas e seu uso como carreador, liberação de fármacos no meio corpóreo, como também a osteocondução e osteoindução em aplicações na área médica (WAGNER, DULLAART *et al.*, 2006).

O trabalho científico e investigativo desta tese foi de sintetizar fosfatos de cálcio, em especial a HAP, através de controle do processo com incorporação de íons de Sr, no intuito de obter controle de suas composições químicas e através disto alcançar cristais com nano/microestruturas morfológicas com foco no biomimetismo e entender os processos de biomineralização de estruturas encontradas na natureza.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar a influência da incorporação de íons de estrôncio por substituição iônica em sítios de cálcio na morfologia e fases cristalográficas resultantes em cristais de fosfatos de cálcio.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Estabelecer as condições ideais de preparação de nano-e/ou microcristais da HAP pura e com estrôncio;
- Elucidar os mecanismos entre o crescimento dos cristais e a auto-organização em diferentes morfologias;
- Investigar as possíveis alterações cristalográficas devido às substituições de íons na rede cristalina;
- Caracterizar, através da difração de raios-X, as fases cristalinas presentes nas amostras, e a variação de compostos integrantes do material pela inclusão de íons substitucionais;
- Caracterizar, através de imagens de MEV, a microestrutura e morfologia das amostras.

### **3 HIPÓTESE**

Os íons de estrôncio quando incorporados por trocas iônicas em sítios de cálcio (através de sua especiação iônica e similar eletronegatividade), obtém-se o equilíbrio iônico e provocam estabilidade da rede cristalina em torno da coluna de OH com mimetização de hábitos cristalinos altamente ordenados e simétricos vistos na natureza.

## 4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E ESTADO DA ARTE

### 4.1 Composição, Estrutura e Formação de Tecidos Duros (Ossos e Dentes)

Por osso pode-se entender como sendo um compósito biocerâmico que tem despertado a atenção dos engenheiros de materiais por causa das suas propriedades mecânicas. Apresenta arquitetura singular de compósito orgânico-inorgânico com alta resistência e tenacidade à fratura. Para Olszta, Cheng *et al.* (2007)

a primeira questão a se entender sobre a formação óssea é que existem dois estágios, referidos a primeira e segunda osteogênese (ossificação) e que são mecanismos que se diferem substancialmente. A cartilagem epifisária serve como a primária formação óssea (ossificação endoncondral), com uma mineralização relativamente rápida e desorganizada, formando a microestrutura do tecido ósseo. Embora o colágeno tipo-I esteja presente nesta fase, não é organizado em lamelas e os cristais não formam uma associação próxima com o colágeno. Em vez disto, aglomerados de hidroxapatita (HAP) formam com proteoglicanos uma matriz, que são referenciados como nódulos calcificantes ou calcoesferitas devido ao arranjo de aglomerados esferulíticos (aglomerado de corpos esferoidais) (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

Os mesmos autores destacam que ocorre um remodelamento na formação secundária do tecido ósseo primário. Passa então a ter uma estrutura mais estável, organizada, com fibras paralelas ou lamelares ósseas. Especificamente no caso dos humanos, evidenciam ainda que o osso, nesta etapa, é organizado em lamelas concêntricas que fazem osteons do sistema de canal Haversiano.

Ainda na mesma obra, esclarecem que a estrutura óssea tem sete níveis hierárquicos, como mostrado nas imagens da figura 4 à figura 10. Sendo que

as fibras colágenas no osso secundário são secretadas pelos osteoblastos e são mais compridas que no osso primário. As fibras

colágenas são organizadas em camadas paralelas com as lamelas que apresentam arranjo concêntrico em volta dos vasos sanguíneos para formar os osteons e, finalmente, os osteons são embalados densamente no osso compacto ou comprimido numa rede trabecular de osso microporoso, também referenciado como osso esponjoso (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

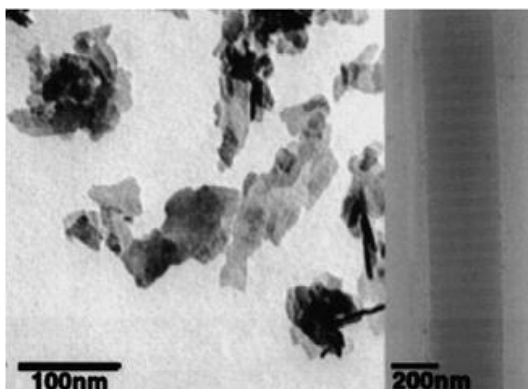


Figura 4: Estrutura óssea, nível um, componentes principais. Cristais de osso humano (esquerda) e parte orgânica de fibras colágenas de tendão vistas por MET (direita) (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

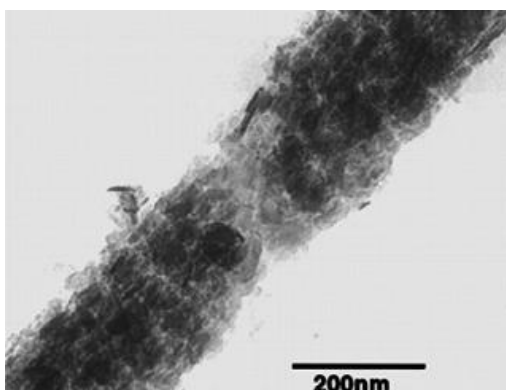


Figura 5: Estrutura óssea, nível dois, mineralização das fibras colágenas de tendão vistas por MET (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

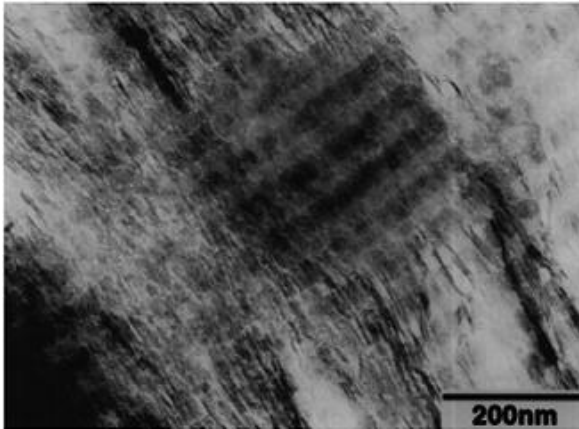


Figura 6: Estrutura óssea, nível três, conjunto de fibrilas de secção fina de tendão visto por MET (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

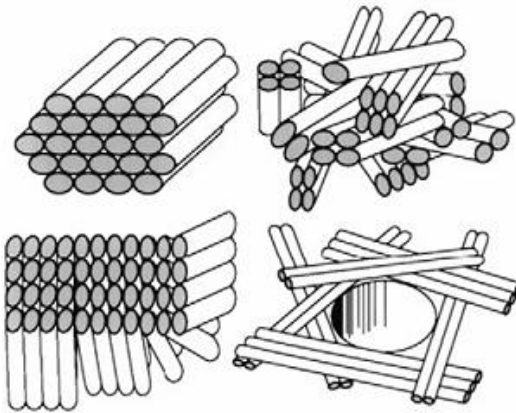


Figura 7: Estrutura óssea, nível quatro, padrões de arranjos de matrizes de fibrilas colágenas encontrada em materiais ósseos (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).



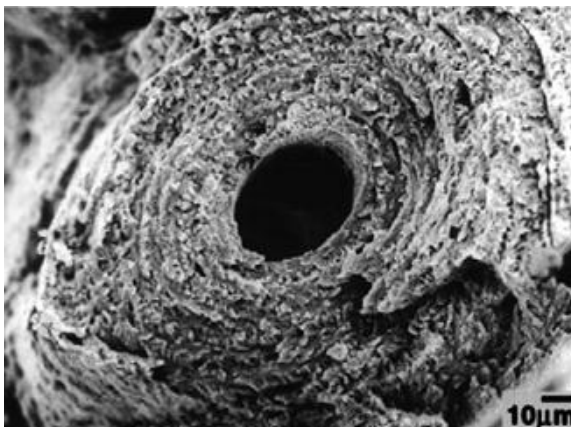


Figura 8: Estrutura óssea, nível cinco, micrografia de cilíndricos - osteons de osso humano (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

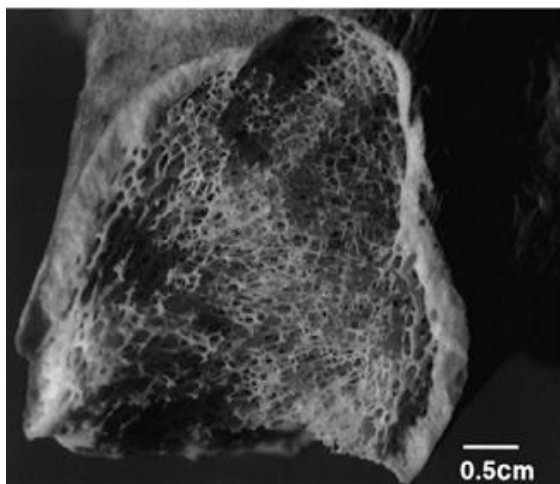


Figura 9: Estrutura óssea, nível seis, micrografia óptica de secção de fratura em osso fossilizado de fêmur (5500 anos) (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

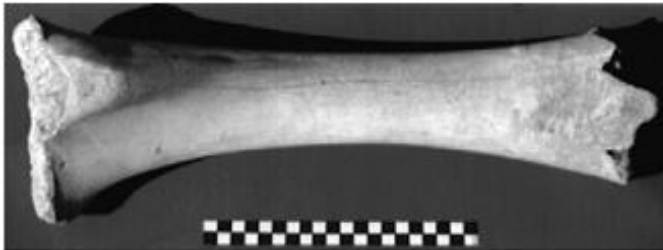


Figura 10: Estrutura óssea, nível sete, osso bovino (escala de 10 cm) (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

Segundo Vallet-Regí (2001) , em nível de organização do cristal na estrutura óssea,

a hierarquia inicia-se com placas nanométricas de hidroxiapatita (HAP) que são orientadas e alinhadas em auto-organização de fibras colágenas. A parte mineral de ossos e dentes é composta pela forma cristalina do fosfato de cálcio similar à hidroxiapatita mineral  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . Vários sinônimos e abreviações têm sido usados para designar a hidroxiapatita, como: OHAP, HAP, HAp e pentacálciumonohidratado ortofosfato. A HAP é o fosfato de cálcio mais usado como implantes, porque é o mais similar à parte mineral de ossos e dentes (VALLET-REGÍ, 2001).

O osso humano tem como composições principais uma matriz protéica colágena e cristais de dahillite  $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3)(\text{OH})_2$  que é como é chamada a hidroxiapatita carbonatada. Estes carbonatos têm origem no próprio carbono do ambiente que interage com o material e é incorporado como impureza na rede cristalina. Na estrutura hierárquica do osso há um arcabouço estrutural de colágeno (parte protéica) entrelaçada com os cristais de Hap carbonatada formando finos canais chamados de canalículos. O arcabouço de fibras colágenas tem diâmetro entre 80 a 100 nm em volta de lacunas e os cristais de Hap arranjados transversalmente às fibras, como representado na figura 11 (LOWENSTAM E WEINER, 1985; TIRRELL, KOKKOLI *et al.*, 2002). Esta organização, representado na figura 12 é descrita em detalhes por Olszta, Cheng *et al.* (2007) como segue abaixo

o esquema mostra varetas cilíndricas de unidades de tropocolágeno composto de tripla molécula helicoidal de colágeno que se reúnem entre as fibras com periódicas lacunas e sulcos, com espaçamento de 0.24 nm. Os cristais da parte mineral são orientados de tal forma que o eixo-c cristalográfico tem sentido transversal ao longo do eixo das moléculas colágenas, enquanto que seu plano (100) é paralelo (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

Esta organização é a que está representada no nível dois, da figura 5, na estrutura hierárquica do osso organizada nanoestruturalmente.

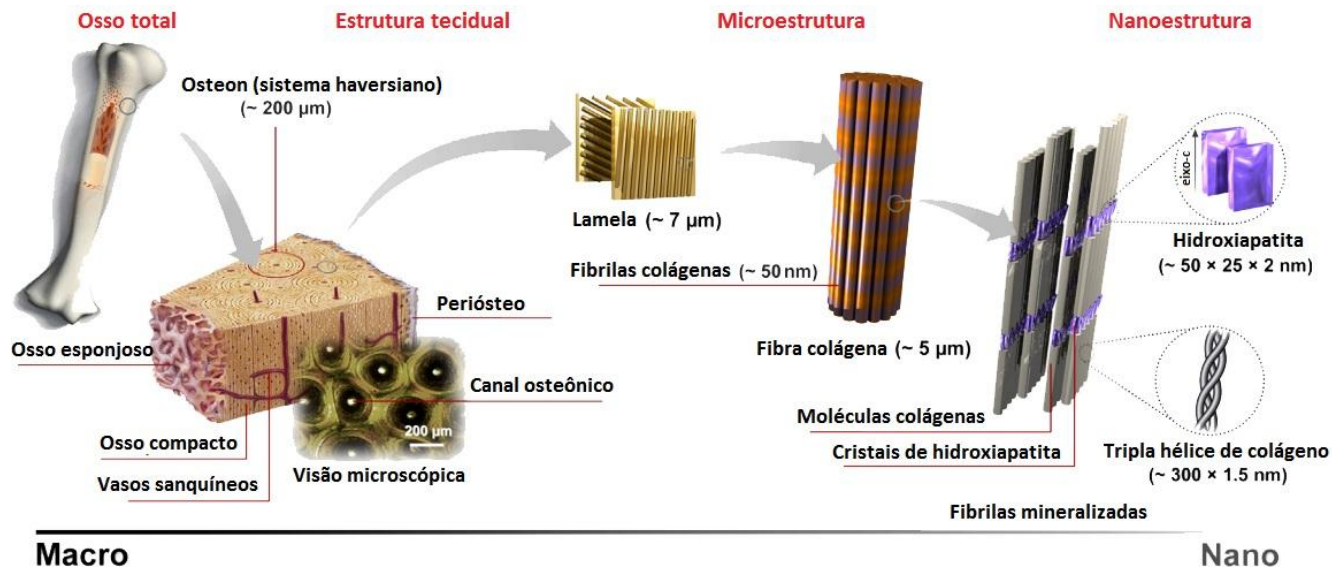


Figura 11: Organização estrutural do osso humano de escala macro, micro até nanométrica. Apresenta estrutura compacta ou esponjosa com o sistema Haversiano em volta de canais osteônicos até a escala nanométrica com lamelas, a rede de fibras orgânicas e os nanocristais de hidroxiapatita (adaptado) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI *et al.*, 2013).

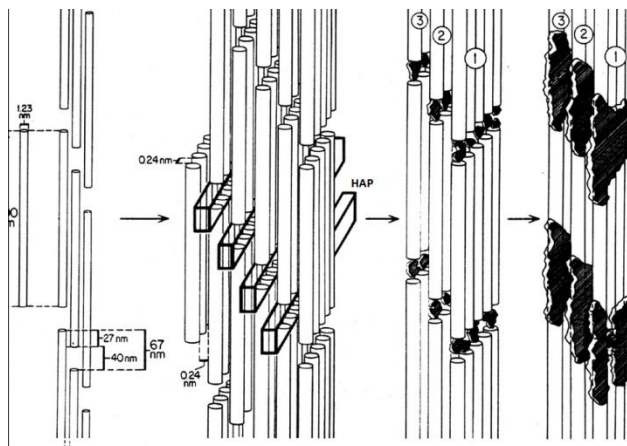


Figura 12: Esquema ilustrando a mineralização de tendão. Os bastões cilíndricos com 1,23 nm de diâmetro são os envoltórios por fibrilas com espaçamento de 67 nm separada por vazios de 40 nm entre as fibras e a zona de sobreposição de 27 nm. O espaçamento entre as unidades de tropocolágeno é de 0,24 nm. A parte mineralizada é vista como estriações e os cristais da parte mineralizada são orientados cristalograficamente no sentido do eixo-c paralelamente ao longo do plano (100) (adaptado) (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

Segundo Olszta, Cheng *et al.* (2007), não somente as partes majoritárias têm influências nas propriedades mecânicas do osso, mas também constituintes minoritários como a água,

o elevado grau de mineral que é conseguido pela injeção de intramineralização fibrilar, leva a um biocompósito com composição em torno de 65 %p de fase mineral, 25 %p de orgânico e 10 %p de água. A água é o menor constituinte, mas contribui significativamente para a dureza total do biocompósito, agindo como um plastificante (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007).

Portanto, além das partes majoritariamente orgânica e inorgânica, os constituintes minoritários, impurezas ou substitutos a nível atômico podem influenciar, por exemplo, as propriedades mecânicas, do osso.

## 4.2 Ortofosfatos de Cálcio

Considerações sobre a família de fosfato de cálcio são importantes para que se possam perceber quais são suas características gerais e específicas. Para Dorozhkin (2012),

ossos e dentes são basicamente formados por componentes minerais e orgânicos (principalmente colágeno). A parte mineral de ossos e dentes é composta pela forma cristalina do fosfato de cálcio similar à hidroxiapatita mineral  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . Os fosfatos de cálcio pertencem à família dos minerais que contêm íons de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) em conjunto com ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), metafosfatos ou pirofosfatos ( $\text{PO}_7^{4-}$ ) e ocasionalmente hidrogênio ( $\text{H}^+$ ) e íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ). Ortofosfatos de cálcio têm significância especial para os humanos, pois eles representam a parte inorgânica de ossos e dentes. Patologicamente surgem em diversas enfermidades como tecidos calcificados. Portanto, devido à similaridade química com os tecidos biológicos calcificados, a maioria dos ortofosfatos de cálcio possuem considerável biocompatibilidade e bioatividade (DOROZHKIN, 2012).

Desde o século 19, quando da descoberta das primeiras composições químicas de ortofosfatos e cálcio por J. Berzelius (1845) que há o interesse em estudar este grupo de materiais. Porém, só no século 20 houve meios científicos esquematizados para sua compreensão, quando executado por F.K. Cameron *et al.* e H. (DOROZHKIN, S., 2009).

Os primeiros testes de implantes destes materiais em animais são relatados desde 1920, porém só em 1951 que ocorreram testes que comprovaram que implante de hidroxiapatita em ratos e porco guinea tinha a eficácia biológica (DOROZHKIN, 2008). Na tabela 1 são apresentados os ortofosfatos de cálcio conhecidos e suas principais propriedades.

Tabela 1: Ortofosfatos de cálcio e suas principais propriedades (adaptado) (DOROZHKIN, 2010b).

Relação Ca/P	Composto	Fórmula	Solubilidade a 25 °C, -log (K <sub>s</sub> )	Solubilidade a 25 °C, g/L	Intervalo de estabilidade em pH em meio aquoso a 25 °C
0,5	Fosfato de monocalcário mono-hidratado (MCPM)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	1,14	~18	0,0-2,0
0,5	Fosfato de monocalcário anidro (MCPA)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,14	~17	c
1,0	Fosfato de Dicalcário di-hidratado (DCPD), mineral brushita	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6,59	~0,088	2,0-6,0
1,0	Fosfato de Dicalcário anidro (DCPA), mineral monetita	CaHPO <sub>4</sub>	6,90	~0,048	c
1,33	Fosfato de octacalcário (OCP)	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> ·5 H <sub>2</sub> O	96,6	~0,0081	5,5-7,0
1,5	Fosfato de tricalcário α (α-TCP), mineral whitlockita	α-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	25,5	~0,0025	a
1,5	Fosfato de tricalcário β (β-TCP), mineral whitlockita	β-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	28,9	~0,0005	a
1,2-2,2	Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Ca <sub>n</sub> H <sub>n</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> ·nH <sub>2</sub> O, n= 3–4,5; 15–20% H <sub>2</sub> O	b	b	~5 – 12
1,5-1,67	Hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA)	Ca <sub>10-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (OH) <sub>2-x</sub> <sup>f</sup> (0 < x < 1)	~85,1	~0,0094	6,5-9,5
1,67	Hidroxiapatita (HAP ou OHAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	116,8	~0,0003	9,5-12
1,67	Fluorapatita (FA ou FAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	120	~0,0002	7-12
2,0	Fosfato de tetracalcário (TTCP ou TetCP), mineral hilgenstockite <sup>c</sup>	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	38-44	~0,0007	a

<sup>a</sup> Este composto o não se precipita em solução aquosa.

<sup>b</sup> Não pode ser medido com precisão.

<sup>c</sup> Estável acima de 100 °C.

A família mineral das apatitas é representada pela fórmula A<sub>10</sub>(BO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>X<sub>2</sub>, o A é em geral um metal divalente (Ca<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, ...), BO<sub>4</sub> é um ânion trivalente (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, ...) e X um ânion monovalente (F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, ...). Cristais de apatita têm uma grande habilidade em formar soluções sólidas e aceitar inúmeras substituições na rede, ou seja, a rede cristalina das apatitas é muito tolerante a substituições, vacâncias e formação de soluções sólidas (ELLIOT, 1994; WHITE, 2005; WHITE, FERRARIS *et al.*, 2005). De fato, vários estudos sobre a estrutura das apatitas biológicas (osso, dentina e esmalte) evidenciaram que a parte mineral dos ossos não é constituída por HAP pura, mas sim associada a elementos minoritários, como: CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e traços de elementos como: Sr<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e F<sup>-</sup>. Em particular, o carbonato é o principal destes substituintes minoritários na apatita óssea, e o material neste caso descrito como

apatita carbonatada (CHAP) devido à presença de  $\text{CO}_3^{3-}$  substitucional (YAO, LEGEROS *et al.*, 2009).

Como um dos principais elementos químicos da biosfera é o fósforo, ele se insere facilmente em material de apatita, logo, se for insuficiente, poderá comprometer ou diminuir a atividade biológica. Conforme Rakovan e Pasteris (2015), “a apatita naturalmente é o mineral com mais abundante ocorrência de fosfatos, formando o ciclo fundamental do fósforo”. Ao observar a tabela 2, destacam a relevância da apatita e suas inúmeras aplicações de acordo com suas propriedades e características (RAKOVAN E PASTERIS, 2015).

Tabela 2: Principais tecnologias e usos científicos da apatita (RAKOVAN E PASTERIS, 2015).

	Aplicações	Propriedades utilizadas
Geologia	Indicador petrogenético; Geocronologia (datação); Minérios de fósforo	Composição principal ou oligoelemento; Composição de radionuclídeos; Composição de fósforo
Meio ambiente	Adsorção de metais pesados; Lixo nuclear sólido; Tratamento de água; Fertilizante	Afinidade, estabilidade química, insolubilidade; Estabilidade térmica e química, temperatura de recozimento; defloculante.
Biologia/Medicina	Ortopedia; Odontologia; Nanopartículas como agentes carreadores e liberadores de fármacos; Recobrimento de próteses, substitutos ósseos e dentários	Constituinte naturais dos ossos; Constituintes naturais dos dentes; Tamanho, morfologia, estrutura, solubilidade e biocompatibilidade; Similaridade composicional e estrutural do mineral de ossos
Materiais	Fósforo; Lasers; Gemas	Emissão óptica; Cor, efeito olho de gato, transparência

Os ortofosfatos apresentam elementos que são predominantes na estrutura, são eles o cálcio, o fósforo e o oxigênio. Diferentes interações químicas entre eles formam compostos do grupo ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), sendo este grupo diferente, por exemplo, do grupo dos metafosfatos ( $\text{PO}_3^-$ ), pirofosfatos ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ) e dos polifosfatos ( $\text{PO}_3^-$ )<sub>n</sub>. Em artigo de revisão dos autores Wang e Nancollas (2008), foi discutido acerca deste grupamento com a inclusão de hidrogênios e, segundo eles, os grupos fosfatos agem diferente na formação dos sólidos de acordo com o pH, como dito:



durante a formação dos complexos de fosfatos de cálcio, a ação do pH desempenha um papel determinante nas propriedades tanto das fases orgânicas como inorgânicas. Enquanto que influencia muito a composição química e a fração de massa das fases inorgânicas, pode afetar a solubilidade das partes orgânicas durante a síntese (WANG E NANCOLLAS, 2008).

Ocorre que diferentes técnicas devem ser aplicadas para ser possível a caracterização das biocerâmicas de ortofosfatos de cálcio. Somente assim serão obtidas informações completas sobre o material pesquisado, como: composição química, homogeneidade, distribuição de fases, morfologias, forma de tamanho de grãos, contorno de grãos, tamanho de cristalitos, cristalinidade, etc. (DOROZHUKIN, 2013a).

#### 4.3 Crescimento e Estrutura de Cristais de Fosfatos de Cálcio

Existem vários tipos de procedimentos de síntese, conforme Tabela 3 abaixo e descritos na literatura para a produção da HAP sintética, são eles: precipitação (CENGIZ, GOKCE *et al.*, 2008; LI-YUN, CHUAN-BO *et al.*, 2005; SHU, XIANZHU *et al.*, 2007; ZHANG, HUANG *et al.*, 2009; ZHU, YANAGISAWA *et al.*, 2004), hidrotermal (AFSHAR, GHORBANI *et al.*, 2003; LIU, HOU *et al.*, 2004; SAERI, AFSHAR *et al.*, 2003; ŚLÓŠARCZYK, PASZKIEWICZ *et al.*, 2005; SUN, LU *et al.*, 2009), método seco (CAO, ZHANG *et al.*, 2005; WANG, LU *et al.*, 2009), precipitação ultrassônica (AN, WANG *et al.*, 2007; CAO, ZHANG *et al.*, 2005), reação de estado sólido (PRAMANIK, AGARWAL *et al.*, 2007), sol-gel (FATHI E HANIFI, 2007; LIU, YANG *et al.*, 2002; RAJABI-ZAMANI, BEHNAMGHADER *et al.*, 2008), emulsão e microemulsão (GUO, SUN *et al.*, 2005; KOUMOULIDIS, KATSOULIDIS *et al.*, 2003), mecanoquímica (NASIRI-TABRIZI, HONARMANDI *et al.*, 2009; SHU, YANWEI *et al.*, 2005) e o método líquido-sólido-solução (LSS) (WANG, ZHUANG *et al.*, 2006). Dentre estes métodos, os que melhor propiciam condições de síntese de HAP em escala nanométrica (nanocristais de HAP), de acordo com a literatura, são: a precipitação química, o método hidrotermal e sol-gel. Contudo, para Rodríguez-Lorenzo e Vallet-Regí (2000),

independentemente da escolha do método de síntese, é sempre necessário o conhecimento dos parâmetros críticos na produção da HAP para cada processo. Com relação aos fatores que influenciam na morfologia, estequiometria e cristalinidade dos materiais sintetizados que com relação aos métodos acima, são relacionados (quando pertinente) a velocidade de precipitação dos reagentes, concentrações das soluções reagentes, temperatura da reação, pH's das soluções [...], tempo de maturação da solução final, atmosfera da reação e do ambiente de queima pós reação (RODRÍGUEZ-LORENZO E VALLET-REGÍ, 2000).

Outros autores relacionam importantes parâmetros ligados à nucleação de cristais e crescimento/dissolução, incluindo: supersaturação/subsaturação, pH, força iônica e proporção de atividades iônicas de cálcio e fosfato, como visto na Tabela 4.

Tabela 3: Diversos métodos de síntese de nanopartículas de hidroxiapatita (adaptado) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI *et al.*, 2013).

Métodos		Aspectos do procedimento		Características do pó					
		Número de reagentes	custo	Morfologia	Grau de cristalinidade	Pureza de fase	Relação Ca/P	Tamanho de partículas (m)	Distribuição de tamanho de partículas
Métodos Secos	Método do estado sólido	poucos	baixo	diversas	muito alto	baixo	variável	micro	largo
	Método mecano-químico	poucos	baixo	diversas	muito alto	baixo	não estequiométrico	nano	largo
Métodos úmidos	Precipitação química	frequentemente poucos	baixo	diversas	frequentemente baixo	variável	não estequiométrico	nano	variável
	Método por hidrólise	poucos	alto	diversas	variável	alto	estequiométrico	variável	variável
	Método sol-gel	variável	variável	diversas	frequentemente baixo	variável	estequiométrico	nano	estrito
	Método hidrotermal	variável	alto	normalmente agulhas	muito alto	alto	estequiométrico	nano ou micro	largo
	Método por emulsão	muitos	alto	normalmente agulhas	frequentemente baixo	variável	não estequiométrico	nano	estrito
	Método sono-químico	poucos	baixo	diversos, normalmente agulhas	variável	alto	variável	nano	estrito
Processos com alta temperatura	Método por combustão	poucos	baixo	diversos, irregulares	variável	alto	variável	nano	largo
	Método por pirólise	variável	baixo	diversos	alto	variável	estequiométrico	micro ou nano	variável
	Síntese por recursos biogênicos	Poucos	baixo	diversos	variável	alto	variável	variável	variável
	Combinação de procedimentos	Variável	variável	normalmente agulhas	alto	alto	estequiométrico	nano	variável

Tabela 4: Controle de crescimento de cristais e seus efeitos no bulk e na superfície dos cristais (WANG E NANCOLLAS, 2008).

Parâmetros	Efeito sobre o bulk	Efeito na superfície do cristal
Supersaturação ( <i>S</i> )	Estabilidade de fases sólidas	Fluxo da rede para a superfície; determina o modo de crescimento (ilhas de nucleação versus incorporação em etapas existentes)
pH	Especiação de solução e subsequente supersaturação	Cargas da rede da superfície influenciando o grau de protonação
Força iônica ( <i>I</i> )	Interações eletrostáticas dentro dos coeficientes de atividades da solução	Comprimento de debye de dupla camada
Temperatura ( <i>T</i> )	Especiação da solução através da dependência da temperatura	Cinética de adsorção, dessorção, difusão
Relação Ca/P	Especiação da solução	Cinética de incorporação: barreiras de ativação diferentes para os íons cálcio e fosfatos
Concentração de aditivos ( <i>/X</i> )	Pode mudar a especiação da solução e subsequente supersaturação	Passo de fixação, bloqueio de camadas, incorporação etc.

Os fosfatos de cálcio mais importantes na biomineralização incluem hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ; HAP), fosfato de octacálcio ( $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; OCP) e brushita ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), sendo incluída também a monetita ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (ARIFUZZAMAN E ROHANI, 2004; MA, G. B. E LIU, X. Y., 2009). Apesar da precipitação química ser simples e de baixo custo, se não houver um controle preciso dos parâmetros de síntese, pode-se acarretar a formação de diferentes fases de fosfatos de cálcio (ARIFUZZAMAN E ROHANI, 2004). Uma rota de possíveis transformações destas fases é apresentada na

Figura 13, com alguns parâmetros, como: variação de pH, temperatura e presença de outros íons diferentes de Ca e P (SADAT-SHOJAI, KHORASANI *et al.*, 2013).

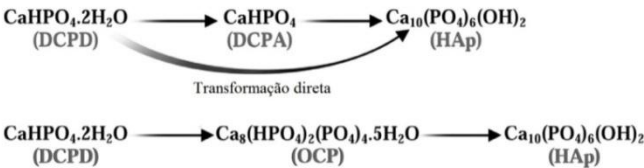


Figura 13: Transformações de fases de fosfatos de cálcio intermediárias como as fases brushita (DCPD), octacálcio (OCP), monetita (DCPA) na formação de hidroxiapatita (HAP) (SADAT-SHOJAI, KHORASANI *et al.*, 2013).

A estrutura das apatitas biológicas, que correspondem à parte mineral dos ossos, dentina e esmalte dentário, diferem bastante estequiometricamente umas das outras por conta de inúmeras substituições iônicas (dopagem ou impurezas) possíveis utilizando-se o hidrogenofosfato ( $HPO_4^{2-}$ ) do grupo  $BO_4$  e o carbonato ( $CO_3^{2-}$ ) dos grupos  $X_2$  e  $BO_4$  ou outros elementos químicos em sítios principalmente do cálcio. Elas contêm vários traços de elementos intrínsecos, por exemplo, o fluoreto está presente na apatita dentária e confere ao esmalte menor propriedade de dissolução, assim, maior resistência a ataques ácidos e por isto previne a cárie dentária. (BARRERE, VAN BLITTERSWIJK *et al.*, 2006). Relevante também a constatação de Dorozhkin (2009) ao afirmar que

o arranjo atômico dos ortofosfatos de cálcio é construído em torno da rede do grupo ortofosfatos ( $PO_4$ ), que provê estabilidade à estrutura. A maioria dos ortofosfatos de cálcio são moderadamente solúveis em água e insolúveis em soluções alcalinas, mas todos eles são facilmente solúveis em ácidos. Os parâmetros mais importantes são a relação molar Ca/P, basicidade/acidez e solubilidade e com estes parâmetros fortemente correlacionados com o pH. Ortofosfato de cálcio com baixa relação Ca/P é mais ácido e solúvel em água (DOROZHKIN, S. V., 2009).

Por isto, a estabilidade estrutural destes materiais é diretamente dependente do pH do meio aquoso em que eles estejam presentes e principalmente quando estão em processo de formação com influência direta do grupo fosfato neste processo. O equilíbrio dos tipos de grupos fosfatos pela variação de concentrações de íons está representado na Figura 14 referenciado por Wang e Nancollas (2008).

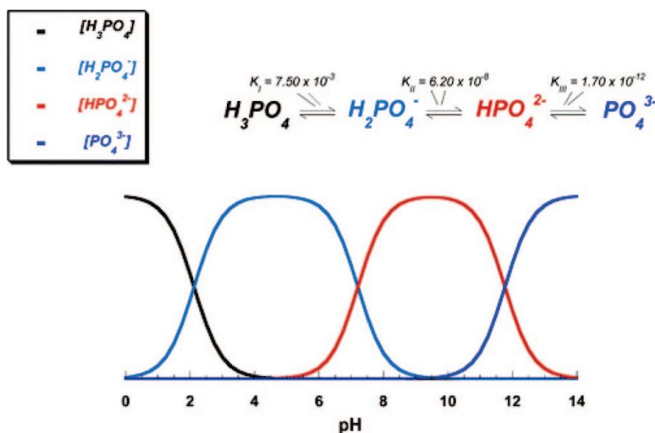


Figura 14: Variação do pH e de concentrações iônicas em equilíbrio triprotônico de soluções de ácido fosfórico. Os diferentes pHs alteram as concentrações relativas das quatro formas protônicas do ácido fosfórico (WANG E NANCOLLAS, 2008).

Dentre estes fosfatos de cálcio, por exemplo, a fase brushita em meio natural se forma em depósitos de fosfatos encontrados em minérios, em solos e na litíase ou cálculo humano, que são pedras ocasionadas por depósito em excesso do composto fosfato no corpo (ABBONA, CHRISTENSSON *et al.*, 1993). Na formação da brushita, como também no caso da monetita, ocorre esta dependência tanto do pH como dos radicais fosfatos no meio aquoso do metabolismo humano. A brushita está presente na formação de lesões de cárie dental em pH entre 4 e 5,6 segundo Sivakumar, Girija *et al.* (1998). Na figura 13 são mostradas algumas possíveis transformações e conversão de brushita em monetita. Alguns autores entendem que isto ocorre por desidratação do material (ABBONA, CHRISTENSSON *et al.*, 1993; SIVAKUMAR, GIRIJA *et al.*, 1998; TAS, 2009; TAS E BHADURI, 2004; TOSHIMA, HAMAI *et al.*, 2014).

A brushita (DCPD) é um material metaestável que normalmente é observado como uma fase cristalina primária (precursora) quando os fosfatos de cálcio são precipitados em pH ácido e a baixa temperatura, como ocorrido também na síntese em pH=6,0 feita nesta tese. Este comportamento está de acordo com a lei de estágios de Ostwald de equilíbrio iônico por precipitação. A metaestabilidade da brushita se manifesta em transformação mediada por solvente (hidrólise) em

solução de neutra para fosfato de cálcio mais básico, que neste caso é o fosfato de octacálcio (OCP). O OCP também é metaestável, e a transformação estável final é para a fase hidroxiapatita (HAP). A transformação da DCPD é iniciada pela nucleação heterogênea do OCP ou, menos provável, pela HAP. Este processo parece ser muito favorecido pelos defeitos cristalinos do substrato e a liberação de íons fosfato dihidrogenado ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) que ocasiona diminuição do pH na solução (AMJAD, 2000; LUNDAGER MADSEN, 2008; MANDEL E TAS, 2010).

A influência dos diferentes pHs e das concentrações dos elementos químicos se correlacionam para a formação dos hábitos cristalinos (morfologia do cristal) da brushita e monetita e que podem se apresentar em forma de pétalas (*water-lily*), tabular (placa), estrelas e esferulíticas. Como demonstrado na Figura 15 o hábito tabular (placas) de brushita sintetizadas por Toshima, Hamai (2014) em pH entre 5,5 e 7,0, forma esta também encontrada no trabalho de Galea, Böhner *et al.* (2013). Como também na Figura 16 os cristais em pétalas os cristais em pétalas (*water-lily*) por Toshima, Hamai (2014) da brushita sintetizada em pH=5.

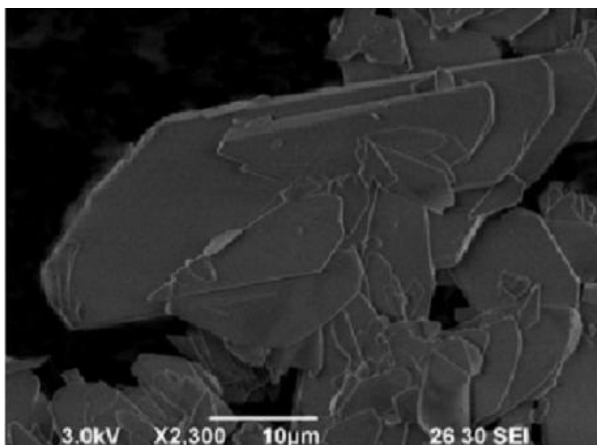


Figura 15: Imagens de MEV de brushita sintetizadas entre pH=5,5 e 7,0 hábito cristalino tabular relatado por TOSHIMA, HAMAI *et al.* (2014) idêntico aos formados nesta tese sem ou com baixa inserção de Sr.

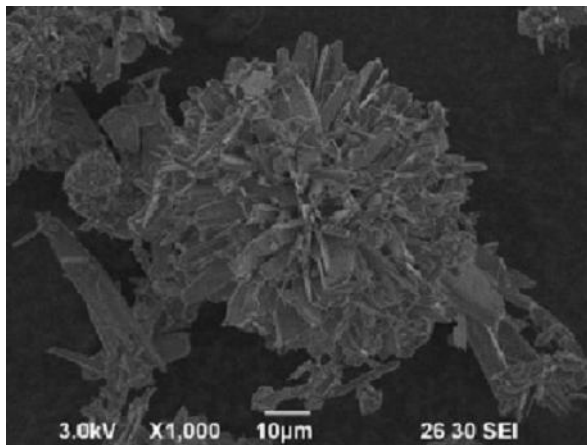


Figura 16: Imagens de MEV de brushita sintetizadas em pH=5 com hábito cristalino em pétalas relatado por TOSHIMA, HAMAI *et al.* (2014) e similar as sintetizadas nesta tese.

A brushita tem intervalo de estabilidade em pH em solução aquosa a 25 °C entre 2,0 - 6,0 e pode se transformar em monetita em temperaturas acima de 80 °C. É relatado por diversos autores (ARIFUZZAMAN E ROHANI, 2004; MANDEL E TAS, 2010; TAMIMI, SHEIKH *et al.*, 2012), como visto na Figura 15, que a brushita cristaliza-se em sistema de rede monoclinico ocasionando a forma de lâminas ou placas (tabular) quando dominadas pela face (010), que é composta por duas fileiras de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$  com ligação de camadas de moléculas de água entre as lâminas e que o ponto de nucleação tem tendência de decréscimo com o aumento da concentração de cálcio e fósforo na reação. Nesta forma, a nucleação tem maior tendência em formar a brushita do que o OCP e HAP quando em pH ácido. Este é um cristal que apresenta espessura fina, por volta de 150 nm, largura de 5 a 10 µm e pode ter comprimentos de 10 a 70 nm (MANDEL E TAS, 2010).

As apatitas com origem na natureza sempre são de dois tipos: deficiente em cálcio ou carbonatada. A hidroxiapatita carbonatada é muito comum e é ocasionada pela impureza  $\text{CO}_3^{2-}$  na estrutura da rede cristalina, isto é um fator relevante e importante, pois, por causa desta impureza no material, são provocados microestresses e defeitos, o que acaba influenciando, por exemplo, na sua solubilidade (VALLET-REGÍ, 2001). Há situações que ocorre a incorporação de  $\text{CO}_3^{2-}$ , uma delas é



quando, em meio com dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) tendo uma quantidade de ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), este se dissocia e forma íons ( $\text{H}^+$ ) e íons carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), estes íons reagem com os componentes da estrutura da HAP provocando a incorporação de carbonatos na estrutura e reações de ( $\text{H}^+$ ) com fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) influenciando a solubilidade do material. Na figura 17 tem-se a representação da célula unitária, com átomos adjacentes, da HAP carbonatada e as respectivas acomodações do carbonato inserido na estrutura. Na figura 18 vê-se uma ampliação da figura 17, onde é possível detectar a incorporação de carbonatos.

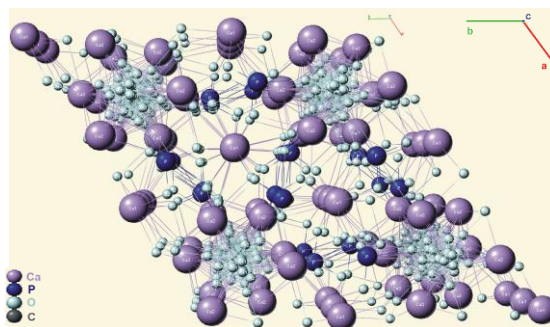


Figura 17: Estrutura cristalina de HAP carbonatada, mostrando acomodações de carbonatos como impureza na rede do cristal que provoca defeitos no cristal (FLEET, LIU *et al.*, 2004).

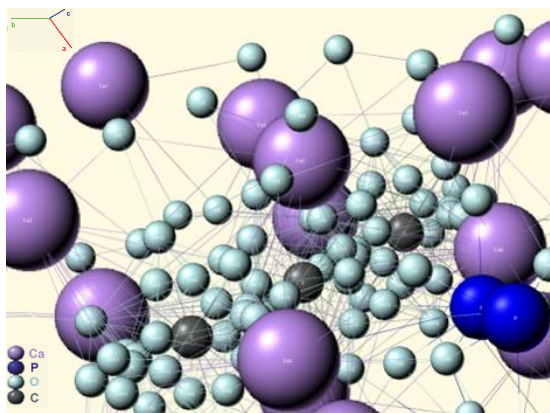


Figura 18: Incorporação de carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) na HAP-carbonatada, representados pelas esferas de cor preta na rede cristalina (FLEET, LIU *et al.*, 2004).

Dentre os tipos de incorporações do carbonato, existem a tipo-A e tipo-B dependendo do modo de substituição:  $CO_3^{2-}$  para OH (tipo A) e  $CO_3^{2-}$  para  $PO_4^{3-}$  (tipo B). O tipo A provoca aumento do eixo-a e diminuição do eixo-c na célula unitária da HAP. A incorporação de carbonatos tipo B pode causar os seguintes efeitos: (a) decréscimo no eixo-a e aumento do eixo-c na célula unitária, (b) decréscimo no tamanho dos cristais, (c) aumento da tensão do cristal, (d) mudança na morfologia do cristal, (e) diminuição da cristalinidade e (f) aumento da solubilidade do material (RZ, 1991). Esclarece ainda que:

a alta solubilidade das apatitas com maior quantidade de carbonato pode ser explicada pelo efeito do carbonato no decréscimo do tamanho do cristal e consequentemente aumento da área superficial, como também possível efeito na tensão do cristal. Ainda, a ligação Ca- $CO_3$  é mais fraca que a ligação Ca- $PO_4$ , então isto faz com que o HAP carbonatado seja mais susceptível à dissolução ácida do que a menos carbonatada (RZ, 1991).

Solubilidade é convencionalmente descrita como a quantidade de sólido que pode se dissolver em unidade de volume da solução. Para os fosfatos de cálcio, esta quantidade pode mudar em várias ordens de grandeza com a mudança de pH e concentrações de ácidos e bases. Na Figura 19 é mostrado um diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio. Na figura 20 é mostrado o mesmo diagrama em duas dimensões para melhor visualização. As alterações da quantidade de sólido pelo pH fazem parte da construção das curvas vistas no gráfico, chamadas de isotermas, através de cada constante de solubilidade ( $K_{sp}$ ) de cada composto, como enumerado na tabela 5. Cada curva de cada material mostra o comportamento das concentrações de Ca e P, em solução saturada, com a variação do pH vê-se que a HAP é o fosfato de cálcio mais estável (menos solúvel) em pH acima de 4,4 (CHOW, 2009).

Chow (2009) caracterizou e esquematizou diversos fosfatos de cálcio com relação à solubilidade e em diferentes pHs, concluindo que,

a HAP é o fosfato de cálcio mais estável (menos solúvel) entre os fosfatos de cálcio na maior faixa de pH (4,4 e acima). Em pH neutro é mais comum

haver a formação desta fase ou fases de apatitas relacionadas a ela, como: HAP deficiente em cálcio, HAP carbonatada, e HAP estequiométrica. A partir dos mesmos precursores para as fases TTCP, DCPD, DCPA, pois são mais solúveis e provêm maior atividade iônica ou força motriz na reação de formação da mesma, que é para a cristalização a existência de sobressaturação da mistura líquida, ou seja, a existência de uma concentração de soluto na solução superior à concentração de saturação (limite de solubilidade) e assim um estado naturalmente muito instável (CHOW, 2009).

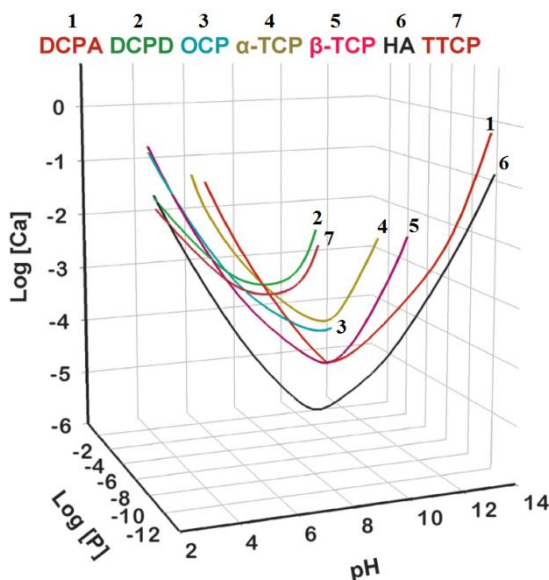


Figura 19: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio (Fosfato Dicálcio Anidro (DCPA), Fosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD), Fosfato de Octacálcio (OCP), Fosfato de Tricálcio da fase  $\alpha$  ( $\alpha$ -TCP), Fosfato de cálcio de Tricálcio da fase  $\beta$  ( $\beta$ -TCP), Hidroxiapatita (HAP) e Fosfato de Tetracálcio (TTCP). Cada curva no diagrama, conhecido como isotermas de solubilidade, podem ser calculados a partir da constante de solubilidade ( $K_{sp}$ ) do material. As isotermas descrevem a solubilidade do sal, expresso pela concentração de cálcio e fosfato totais que são saturados na solução em função do pH com temperatura e pressão fixas (CHOW, 2009).

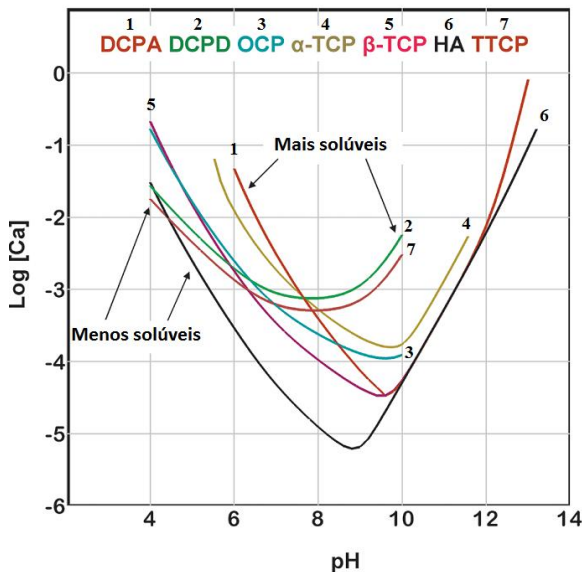


Figura 20: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio (Fosfato Dicálcio Anidro - Monetita (DCPA), Fosfato de Cálcio Dihidratado - Brushita (DCPD), Fosfato de Octacálcio (OCP), Fosfato de Tricálcio da fase  $\alpha$  ( $\alpha$ -TCP), Fosfato de cálcio de Tricálcio da fase beta ( $\beta$ -TCP), Hidroxiapatita (HAP) e Fosfato de Tetracálcio (TTCP) em duas dimensões, onde um sal cuja isotérmica que se encontra abaixo de outro sal é menos solúvel (mais estável) a degradação do mesmo em meio aquoso em função de determinado pH. O ponto em que duas isotérmicas se cruzam é conhecido como ponto singular. A solução no ponto singular é simultaneamente saturada para ambos os sais (adaptado) (CHOW, 2009).

Tabela 5: Família de fosfatos de cálcio e suas respectivas constantes de solubilidade a 25 °C (adaptado) (CHOW, 2009).

Nome	Abreviação	Fórmula	Ca/P	K <sub>sp</sub>
Fosfato de Tetracálcio	TTCP	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2.0	$10^{-38}$
Hidroxiapatita	HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67	$10^{-116,8}$
Fosfato de Cálcio amorfo	ACP	$\text{Ca}_{10}(\text{H}_{25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$	1.50	$10^{-25,2}$
Fosfato de Tricálcio da fase alpha ( $\alpha$ )	$\alpha$ -TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	$10^{-28,9}$
Fosfato de Tricálcio da fase beta ( $\beta$ )	$\beta$ -TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	$10^{-25,5}$
Fosfato de octacálcio	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33	$10^{-96,6}$
Fosfato de Dicálcio dihidratado (brushita)	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0	$10^{-6,59}$
Fosfato de Dicálcio (monetita)	DCPA	$\text{CaHPO}_4$	1.0	$10^{-6,9}$
Fosfato de cálcio anidro	MCPA	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.5	Muito solúvel
Fosfato de cálcio monohidratado	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5	Muito solúvel

Segundo as leis de estágios de formação de Ostwald que expressam as generalizações do primeiro sólido a se precipitar a partir de soluções supersaturadas, não são as mais termodinamicamente estáveis, mas são fases com metaestabilidade intermediária e que vagarosamente transformam-se nas mais estáveis, como nos casos do DCPD e OCP nas biocerâmicas de fosfatos de cálcio. A partir de partículas de fosfato de cálcio amorfo (FCA), que são compostos aglomerados por pacotes de partículas de  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ , como representado na Figura 21, alcançam a nucleação em fases cristalinas de fosfatos de cálcio quando da estabilidade do precipitado seguindo as regras de estágios de Ostwald. Importante ressaltar que é encontrado de 15 a 20% de água no composto amorfo, situado nos espaços intersticiais e as interações dos íons no meio, dependentes do pH e concentrações de íons, com a desidratação provocam um material de partida para que tipo de cristal será formado (POSNER, BETTS *et al.*, 1980).

O *Posner's cluster* ( $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ ) é o menor bloco gerador de apatitas (DOROZHKIN, 2007). O FCA é geralmente precipitado em meio alcalino e à medida que o pH se torna mais ácido, a taxa de conversão se torna mais rápida, embora haja divergência na literatura quanto a isso. Em meio ácido com pH entre 3 e 4, as fases amorfas somente existem por alguns minutos e são convertidas em brushita (DCPD) em vez de apatita. Em um segundo estágio de transformação do FCA, surgem fases como OCP e a apatita deficiente em cálcio (COMBES E REY, 2010).

Do material de partida amorfo ou semiamorfo FCA, ocorre o início de toda nucleação e transformações cinéticas químicas para as estruturas cristalinas quando estabilizadas. Há uma relação direta com a concentração do reactante versus o tempo que ocorrem os estágios de transformação, com mudanças abruptas entre a taxa de precipitação com o aparecimento de novas fases cristalográficas (SIKIRIĆ E FÜREDI-MILHOFFER, 2006), como representado pela Figura 21.

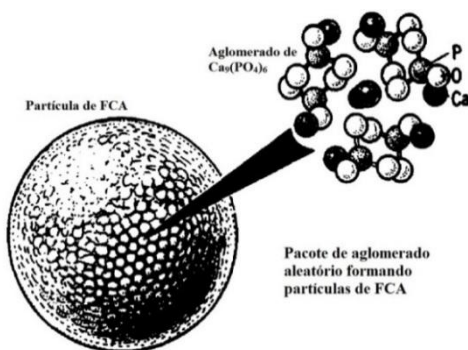


Figura 21: Pacote de aglomerado de fosfato de cálcio amorfo (FCA), gerador de nucleação de fosfatos de cálcio (adaptado) (POSNER, BETTS *et al.*, 1980).

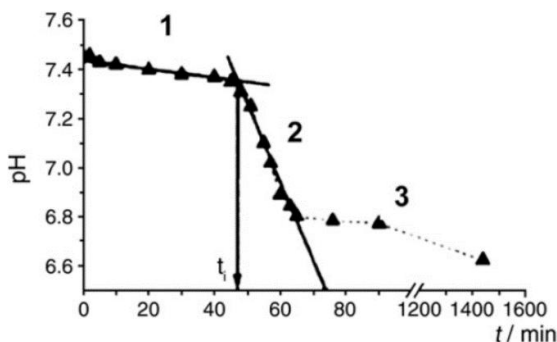


Figura 22: Cinéticas de transformações FCA - fases cristalinas. 1 - precipitação, 2 - Início da nucleação (mudanças abruptas no pH tem relação com as mudanças nas concentrações do cálcio e fosfato). 3 - Soluções mediadas pelo crescimento e amadurecimento das fases cristalinas (SIKIRIĆ E FÜREDI-MILHOFFER, 2006).

Além dos fatores comentados até este ponto que influenciam as fases cristalinas, há as alterações, tanto de fases como de hábitos cristalinos (morfologias), ocasionados pela diferença de grupo cristalino de cada material, como exemplo, nesta família ocorre na fase mais importante que é a hidroxiapatita. Esta fase pode se apresentar com grupo espacial hexagonal ou monoclinico.

A cristalização de HAP depende da difusão e adsorção de íons  $\text{OH}^-$  sobre a sua superfície além dos íons Ca e P. Logo, antes que unidades de crescimento sejam incorporadas à rede cristalina, por causa das diferenças de energia superficial, a quantidade de íons  $\text{OH}^-$  adsorvidos dependem das diferentes facetas do *cluster* de nucleação no início da formação a partir do FCA. Algumas facetas do *cluster* apresentam preferência em adsorver íons  $\text{OH}^-$ , assim, o efeito blindagem dos íons  $\text{OH}^-$  nas interfaces irá controlar a taxa de crescimento das facetas em que os íons são adsorvidos.

Quanto maior for o valor do pH na síntese, maior será o resultado da formação isotrópica ou com fraca anisotropia no crescimento de cristais de fosfatos de cálcio através da alta taxa de difusão (fluxo de íons) e intensa probabilidade de adsorção de íons  $\text{OH}^-$ , ocasionando crescimento de cristalitos em forma de nanobastões curtos ou placas e das formas mais estáveis como a HAP. Porém, em valores de pH mais baixos, a probabilidade de adsorção de íons  $\text{OH}^-$  na superfície na nucleação da HAP fica limitado e resulta num crescimento preferencialmente anisotrópico e a morfologia mais comum é a de placas, além das fases menos solúveis como: brushita e monetita (REN, DING *et al.*, 2012; ZHANG, YANG *et al.*, 2009).

No caso da HAP, o fenômeno de dissolução implica que a borda da parede e parte do *bulk* podem ter diferentes propriedades físico-químicas. Através das covas que podem fornecer sítios ativos que iniciam a dissolução e que têm orientação preferencial ao longo do eixo-c, penetrando nas placas. Do mesmo modo, as camadas são empacotadas no sentido do eixo-c e apresentam a mesma estrutura de rede cristalina.

Importante a partir disto discutir a formação (crescimento) destes cristais com morfologia hexagonal diferenciando a organização atômica da HAP com grupo espacial hexagonal e a monoclinica, como também determinados comportamentos de estruturação de hábito cristalino correlacionando com estes grupos espaciais. De início, segundo Elliot Mackie *et al.* (1973), com relação à forma mais frequente da HAP e a mais comum de ser sintetizada em laboratório, tem-se o sistema hexagonal ( $a = b = 9.432 \text{ \AA}$ ,  $c = 6.881 \text{ \AA}$ ;  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$ ) com organização de tetraedros de  $\text{PO}_4^-$  unidos com íons  $\text{Ca}^{2+}$  intercalados

entre eles”. Nesta rede apresentam-se dois sítios diferentes de cálcio:  $\text{Ca}_I$  e  $\text{Ca}_{II}$ .

Um segundo polimorfo pertence ao sistema monoclinico ( $a = b = 9.4214\text{\AA}$ ,  $c = 6.881\text{\AA}$ ;  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$ ) com grupo espacial  $P2_1/c$ . Este segundo polimorfo é estequiométrico enquanto que o primeiro é não-estequiométrico, por isto a HAP do sistema hexagonal é mais comum por ser de mais facilidade de controle de sua síntese em laboratório. Enquanto que a monoclinica é de difícil sintetização, onde sua primeira ocorrência em laboratório foi feita por Elliot *et al.* (ELLIOTT, MACKIE *et al.*, 1973 apud YOUNG, 1967) que prepararam amostra que consistia de ~30% de HAP monoclinica e 70% de sistema hexagonal.

É primordial não confundir sistemas cristalinos (cúbico, tetragonal, ortorrômbico, hexagonal, romboédrico ou trigonal, monoclinico e triclínico), que estão relacionados aos parâmetros de rede elementar da célula unitária do cristal, com hábito cristalino, que é a aparência típica de um cristal de acordo com sua forma e tamanho (acicular, laminar, globular, anédrico, colunar, dendrítico, dodecaédrico, drusas, euédrico, colunar, filiforme, foliado, granular, nodular, octaédrico, reticulado, pseudo-hexagonal ou hexagonal, tabular, estelar, entre outros).

Importante ressaltar ainda que a fase monoclinica é mais ordenada e energeticamente mais estável que a hexagonal a baixas temperaturas e com diferenças estruturais entre os dois polimorfos muito sutis (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2014; SLEPKO E DEMKOV, 2015). Como comentado da alteração de fases por reação topotática por desidratação e alteração nos íons hidroxila e esquematizado na figura 13, a desidratação das fases brushita e monetita levam à formação da HAP e sabendo que o Sr provoca desidratação de grupos fosfatos, deve-se entender a relação de grupos OH nestas transformações quando do uso deste substituto iônico (dopante).

Segundo Helmut Colfen *et al.*(2008),

as características de algumas reações topotáticas ocasionam texturas em mesocristais com algumas características, como:

I - A densidade dos mesocristais resultantes são mais altos do que o seu precursor, o monocristal. Isto leva a finos poros no mesocristal, em que ainda os mantêm unidos por conexões do mineral entre os nanocristais individualmente. As



formações do poro mantem o progresso da reação no interior do monocristal.

II - Os padrões de difração mostram finos pontos do cristal precursor da ação inicial da reação, em que são subsequentemente sobrepostos pelos padrões de difração do mesocristal produzido, revelando relações orientacionais entre dois cristais.

III - A alta velocidade de nucleação heterogênea é formada na matriz do monocristal precursor, mas comparativamente ao crescimento lento, leva à formação de mesocristais pelas unidades de construção de nanocristais, que se torna evidente pelos pontos alargados nos padrões de difração. O amadurecimento de largos domínios do monocristal pode ser revelado pela intensidade dos pontos de difração.

Segundo os trabalhos de Furuichi, Oaki *et al.* (2006) e Colfen e Antonietti (2008) os mesocristais se formam através do material de partida DCDP em primeira fase após o FCA e por transformação topotática, que ocorre em primeiro estágio com a desidratação da brushita (DCPD) formando a monetita e após rápida hidratação, a formação da HAP monoclinica com orientação preferencial no plano (010) que é um subconjunto do plano (020), representação na Figura 23 (CÖLFEN E ANTONIETTI, 2008; FURUICHI, OAKI *et al.*, 2006)

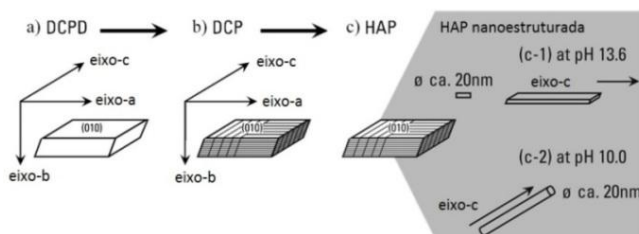


Figura 23: Ilustração da literatura de esquema de processo geral a partir do precursor DCPD em HAP através de DCP texturizada. O precursor DCPD foi preparado em gel contendo íons de fosfatos. A nanotexturização foi obtida pela desidratação do precursor DCPD. A estrutura da HAP em nanoescala consiste da texturização das partículas e fibras formadas da hidrólise a pH 13,6 e 10,0, respectivamente (adaptado) (CÖLFEN E ANTONIETTI, 2008; FURUICHI, OAKI *et al.*, 2006).

Os autores Ma, G. e Liu, X.Y. (2009) enumeram a diferença que há entre a HAP monoclinica e hexagonal pelas diferenças de orientações dos OH's, onde,

a maior diferença entre a HAP monoclinica e a hexagonal são as orientações dos grupos hidroxilas (OH). Conquanto que, na monoclinica, todos os OH na mesma coluna apontam para a mesma direção, e em direções reversas. Enquanto que na hexagonal, os OH adjacentes apontam em direções opostas, por isto o sistema cristalino monoclinico estruturalmente mais estequiométrico que o sistema cristalino hexagonal (MA, G. E LIU, X. Y., 2009).

Como visto na Figura 24 e na Figura 25, “os íons OH são ilustrados com diferenças primárias na HAP monoclinica (a) e hexagonal (b) e as simetrias nas morfologias (hábitos) dos cristais são determinadas pelas inserções ao longo da cadeia” (MA, G. E LIU, X. Y., 2009).

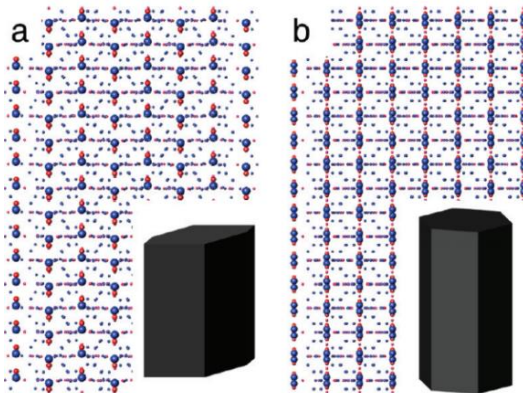


Figura 24: As estruturas atômicas da HAP do sistema monoclinico (a) ao longo do plano [110] e HAP do sistema hexagonal (b) ao longo do plano [-1100], respectivamente. Os íons OH ilustram a diferença primária das duas estruturas com a determinação das simetrias morfológicas inseridas no canto inferior direito (MA, G. B. E LIU, X. Y., 2009).

Na Figura 26, há a representação da célula primitiva da HAP hexagonal com grupo espacial  $P6_3/m$  que contém dez átomos de cálcio e

seis grupos fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) e duas moléculas de OH com dois tipos de sítios de Ca na célula, com o  $\text{Ca}_{\text{II}}$  arranjado em hexágono em volta das moléculas de OH. Já em representação do trabalho de Matsunaga e Kuwabara (2007), representado na célula unitária da Figura 27 demonstra que os autores calcularam a estrutura eletrônica da HAP e os mecanismos de formação de vacâncias com foco nas conexões formadas dos grupos fosfatos e as hidroxilas enumerando a influência das vacâncias nas hidroxilas e hidrogênicos na estrutura formada e comparando as estruturas cristalográficas da HAP monoclinica (grupo espacial  $P2_1/b$ ) e hexagonal ( $P6_3/m$ ).

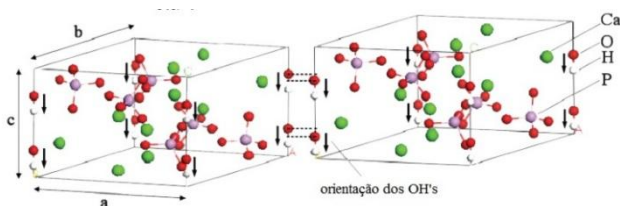


Figura 25: A principal diferença entre as estruturas é a localização dos átomos de oxigênio que originam os OH (adaptado) (SLEPKO E DEMKOV, 2011).

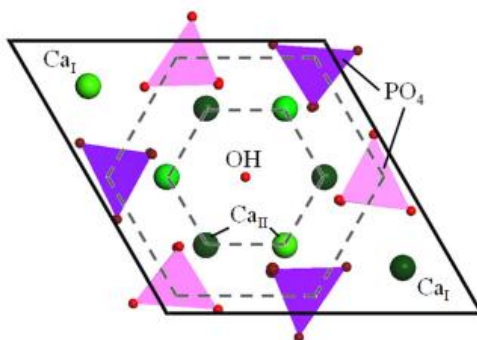


Figura 26: Visão superior da célula primitiva da HAP do sistema hexagonal nas direções  $x$  e  $y$  em que a coluna de OH é o centro retratado na célula. Os sítios de  $\text{Ca}_{\text{II}}$  em verde escuro e as moléculas  $\text{PO}_4$  estão centralizadas em  $Z = 0,25c$  e os sítios  $\text{Ca}_{\text{II}}$  em verde mais claro estão centralizados em  $Z = 0,75c$ . A coluna de OH é rodeada por seis átomos de  $\text{Ca}_{\text{II}}$  e seis moléculas de  $\text{PO}_4$ . Os átomos no sítio de  $\text{Ca}_I$  estão nas extremidades da célula (SLEPKO E DEMKOV, 2015).

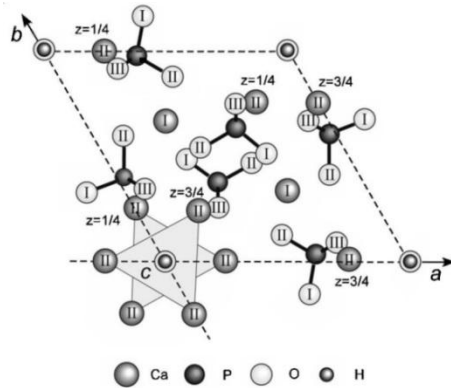


Figura 27: Ilustração, de Matsunaga *et al.*, de célula unitária primitiva de HAP com um total de 44 átomos, em que contém dois sítios de cálcio equivalentes [Ca(I) e Ca(II)], um sítio de P, quatro sítios diferentes de oxigênio [O(I), O(II), O(III) e O(IV)], e um sítio de H localizado ao longo do eixo-c. Os átomos de P formam o tetraedro  $PO_4$  com O(I), O(II) e dois átomos O(III), ligados ao tetraedro via Ca(I) e/ou Ca(II) ao longo do eixo-c. No caso o Ca(I) é coordenado por três átomos O(I) e três átomos O(II) com tamanho de ligação de 0,24 nm, enquanto o Ca(II) tem coordenação com um átomo O(II), quatro átomos O(III), e um átomo o(IV) (MATSUNAGA E KUWABARA, 2007).

Na Figura 28 é possível visualizar padrões de difração de elétrons para a HAP monoclínica e hexagonal da literatura (XUE, SHI *et al.*, 2010), sendo que na monoclínica, há distribuição hexagonal dos *spots* de difração.

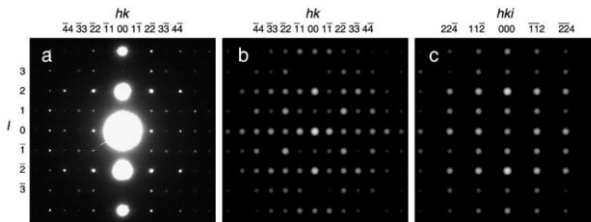


Figura 28: Padrões vistos na literatura, em (a) padrão SAED de nanobastão de monocristal de HAP e simulações de padrão de difração de elétrons de estruturas de (b) HAP do sistema monoclínico e (c) HAP do sistema hexagonal, respectivamente. Os pontos de difração estão indexados pelos valores  $hk$  ( $hki$  para a HAP hexagonal) acima dos padrões e valores  $l$  (XUE, SHI *et al.*, 2010).

A morfologia (hábito) normalmente é determinada pela estrutura cristalográfica (sistema ou grupo espacial da rede cristalina). Por exemplo, cristais de sistema triclinico e monoclinico facilmente apresentam-se em forma de lâminas (placas ou tabular). Formas de fitas são compostos de cristais com sistema triclinico, enquanto que placas hexagonais ou pseudohexagonais podem se formar a partir do sistema monoclinico, influenciados pela energia de Gibbs das faces dos cristais monoclinicos e triclinicos. Como informação, o cristal monoclinico é mais estável termodinamicamente que a fase triclinica. De acordo com o tipo de plano de crescimento e sua orientação preferencial de cada sistema, determinará o hábito cristalino do sólido formado. (HUANG, LIAO *et al.*, 2010).

Em trabalho de Aquilano *et al.* (2014), foi aplicada a análise de Hartman-Perdok em simulação do sistema cristalino monoclinico na HAP. Com isso foram identificados os perfis de superfícies mais estáveis a partir de suas energias superficiais. Determinou-se com esta simulação o cristal no seu ponto de equilíbrio e mostrou ser dominada pelos três pinacóides quasi-equivalentes pela simetria (100), (001), ( $\bar{1}02$ ) e pelo pinacóide (010). Dentre eles os três primeiros correspondem às três faces de um prisma hexagonal com preferencial no pinacóide monoclinico (010) (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2014). Isto explica a relação do hábito cristalino hexagonal ou pseudohexagonal de cristais com o sistema monoclinico em predominância do plano (010) no seu crescimento.

Neste trabalho de Aquilano, Bruno *et al.* (2014), eles comprovaram esta estrutura por simulação, onde estudou-se o crescimento no plano (010) com a formação da morfologia pseudohexagonal. Eles explicam o comportamento da cadeia periódica da rede cristalina da seguinte forma:

a cadeia de ligação periódica mais importante no cristal da HAP é a existente ao longo do plano (010), esta cadeia se desenvolve em torno do eixo  $2_1$  em hélice relacionado com duplos íons  $\text{OH}^-$ , no seu *bulk*, metade da cadeia é polar em torno da direção positiva do eixo  $x$  e a outra metade mostra polaridade oposta. O importante nesta cadeia  $2_1$  é o fato de que eles identificam as três formas flat pertencentes à zona [010], formada pelos pinacóides paralelos entre si [100], [001] e [ $\bar{1}02$ ]. Os caracteres destas três formas resultantes são vinculados ao longo das direções [001], [100] e

[201], respectivamente. As fatias de espessura  $d_{002}$ ,  $d_{100}$  e  $d_{\bar{1}02}$  cumprindo as regras de extinção sistemática imposta pelo grupo espacial  $P2_1/c$  de cada uma destas faixas contêm tanto o plano da cadeia  $[010]_A$ , como também nas cadeias  $[001]$ ,  $[100]$  e  $[201]$ , respectivamente e portanto correspondem as formas cristalográficas correspondentes ao plano (F) e crescem camada-por-camada, seja por espiral ou nucleação bidimensional formando cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2014).

Na Figura 29, vê-se estas fases no plano  $(010)_A$ , com os grupos OH orientados de cima para baixo dentro das fatias  $d_{100}$  e  $d_{\bar{1}02}$ , enquanto que se alternam todos para baixo dentro das fatias adjacentes  $d_{002}$  (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2014).

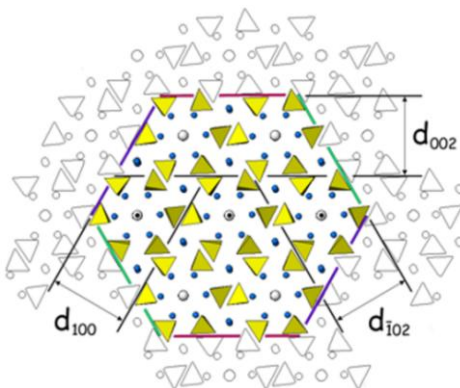


Figura 29: Os perfis  $(100)$  em azul,  $(001)$  em vermelho e  $(\bar{1}02)$  em verde são obtidos do plano  $(010)_A$ . Vale salientar que os grupos OH são orientados de cima para baixo dentro das fatias  $d_{100}$  e  $d_{\bar{1}02}$ , enquanto que eles se alternam (todos para cima ou para baixo) dentro das fatias adjacentes  $d_{002}$ , estas diferenças que determinam qual hidroxiapatita se forma: a monoclinica ou a hexagonal (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2014).

Como visto, a cristalização desta família requer controle de diversos parâmetros, tanto na síntese como no próprio ambiente. Todos eles independentemente ou correlacionados afetam o crescimento do cristal e geram consequências em sua morfologia final.

#### 4.4 Biomimetismo e biomineralização

A ciência de auto-organização de materiais pode ser explicada como a organização espontânea de cristais ordenados por interações não-covalentes. Na maior parte do tempo, isto ocorre em meio aquoso. O processo natural de biomineralização ocorre com a formação de cristais e nanocristais auto-organizáveis. A figura 30 mostra diferentes esquemas de crescimentos de cristais a partir da nucleação de nanocristais e a formação de policristais, monocristais e mesocristais com ação de aditivos orgânicos (LIU, ZHANG *et al.*, 2014). O conceito de mesocristais é relativamente recente e foi formulado para explicar superestruturas compostas de nanocristais com orientação cristalográfica específica e que se confunde com um monocristal quando da análise de caracterização por difração de raios-X, por exemplo. Pelos conceitos e conhecimentos clássicos existentes, há diversas formas de cristalização. Liu, Zhang *et al.* (2014) explica-as:

sem a cristalização, íons precursores de fases cristalinas não formam uma rede periódica em escala atômica e forma material amorfo. Já a cristalização refere-se ao processo em que os átomos se arranjam periodicamente formando materiais cristalinos que incluem os monocristais, policristais e mesocristais. Nos monocristais, os átomos estão arranjados periodicamente ao longo de todo cristal com o mínimo de defeitos. Nos policristais, os átomos estão dispostos periodicamente, mas os cristais não estão alinhados cristalograficamente e para os mesocristais o alinhamento ocorre, mas existe entre seus espaços impurezas ou aditivos e defeitos, exemplo: oclusões orgânicas, solventes, amorfos homólogos ou vazios (LIU, ZHANG *et al.*, 2014).

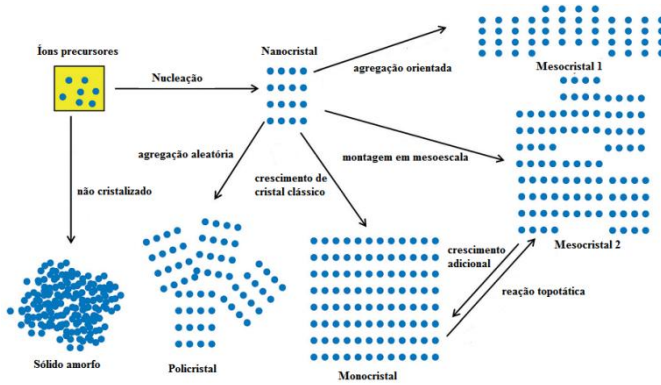


Figura 30: Esquema de diferentes modos de cristalização de materiais e seus mecanismos de formação (adaptado) (LIU, ZHANG *et al.*, 2014).

Com a descoberta de que muitos biominerais são compostos por mesocristais e seguindo a linha de querer biomimetizá-los, pesquisadores têm interesse para reproduzi-los em laboratório com idênticas características de crescimento para obter as mesmas estruturas organizacionais e com isto melhorar o desempenho mecânico dos materiais sintéticos. Os biominerais mesocristalinos com este tipo de organização estão presentes, por exemplo, em espinhos, colunas vertebrais ou conchas e por isto são mecanicamente otimizados para proteção ou suporte. Estas características estão presentes em coral vermelho e o ouriço, como também no próprio osso (BERGSTRÖM, STURM *et al.*, 2015), estes exemplos podem ser vistos no esquema ilustrativo da figura 31.



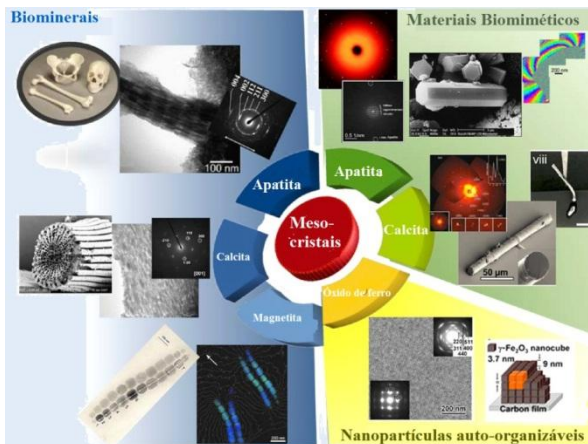


Figura 31: Ilustração de mesocristais encontrados em biomateriais da natureza e materiais compósitos biomiméticos e coloidais. As imagens correspondem ao osso (biomateriais, apatita), bactéria magneto tática (biomateriais, magnetita), fluorapatita-gelatina (materiais biomiméticos, apatita), espículas de calcita (materiais biomiméticos, calcita), e nanocubos de maghemita (nanopartículas auto-organizáveis, óxido de ferro) (adaptado) (BERGSTRÖM, STURM *et al.*, 2015).

Os mesocristais sintéticos desenvolvidos por biomimetização dos biomateriais têm complexa estrutura hierárquica. Um exemplo interessante que incluem mesocristais é a fluorapatita com gelatina em sua matriz estrutural (Figura 32) e as espículas de calcita mesocristalinas que têm impressionante resistência e flexibilidade por apresentar que pode ser sintetizado usando fibras protéicas de silicateína como substrato na deposição de cristais de carbonato de cálcio. Esta é uma estrutura muito parecida com a do nácar da concha de abalone que tem naturalmente propriedades mecânicas muito superiores ao osso. (BERGSTRÖM, STURM *et al.*, 2015). Na figura 33 vê-se esquema de diferentes tipos de alinhamentos cristalográficos de nanopartículas em materiais cristalinos com correspondência com seus padrões de difração formando mesocristais.

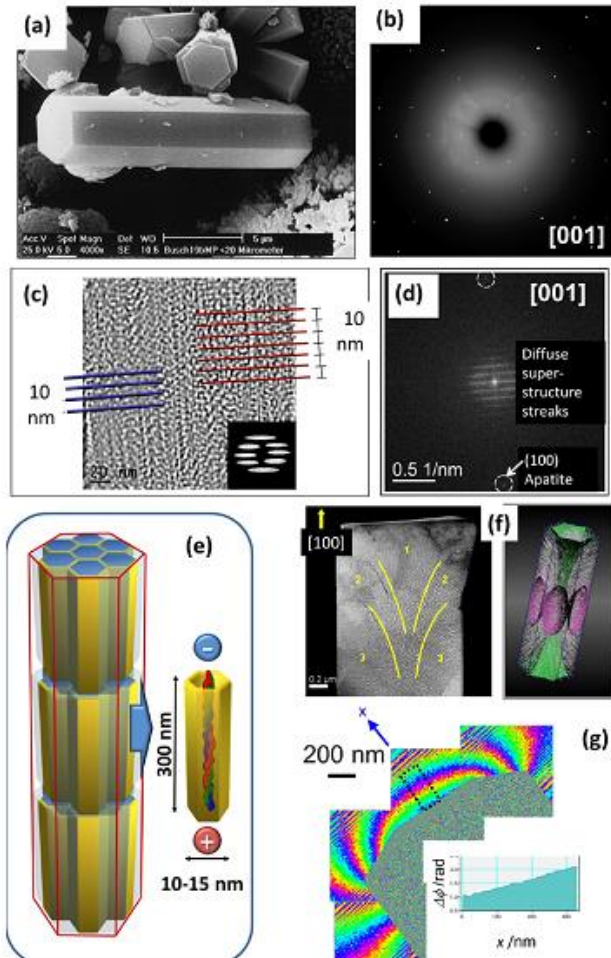


Figura 32: Observações experimentais e simulações de nanocompósito fluorapatita-gelatina. (a) Imagem de MEV de cristal prismático hexagonal, (b) padrão de difração de raios-X (c), imagem de MET ao longo do eixo [001], (d) superestrutura com arranjo periódico de 10 nm, (e) subunidades nanométricas ao longo da cadeia, (f) Imagem de MET mostrando complexidade do padrão incorporado nas microfibras de gelatina e (g) Imagens mostrando a distribuição de potenciais elétricos em torno do compósito (adaptado) (KNIIEP, SIMON *et al.*, 2014).

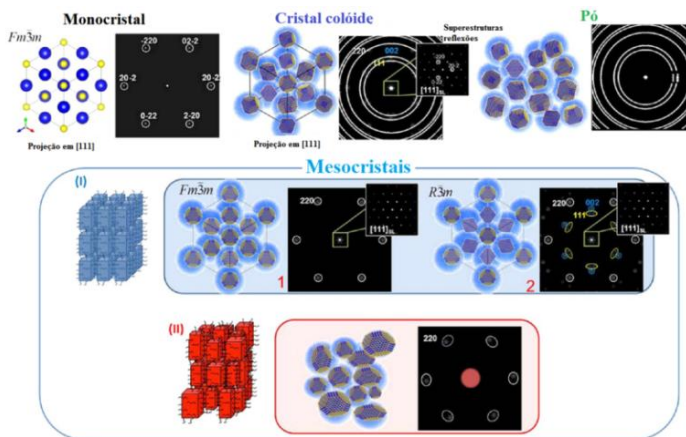


Figura 33: Arranjos de nanopartículas em materiais cristalinos com diferentes arranjos estruturais. No caso do monocristal  $Fm\bar{3}m$  as nanopartículas são estabilizadas por moléculas orgânicas (encapsulamento azul) e arranjados em uma superestrutura de rede CFC. O mesocristal tipo I é um cristal colóide com nanocristais monodispersos e que se confunde com monocristal quando do uso de difração de raios-X a baixo ângulo (1) ou pelo padrão de textura (2) na região de maior ângulo e o tipo II, tem uma orientação polidispersa de nanocristais com possível grau de orientação incompatível, mas mesmo assim apresenta um padrão de difração simétrico (adaptado) (BERGSTROM, STURM *et al.*, 2015).

Recentemente, mesocristal foi definido por Colfen e Niedberger como: “[...] uma partícula composta por unidades primárias em um registro cristalográfico, mas sem coerência e material cristalino os unindo” (YUWONO, BURROWS *et al.*, 2010) e definida por SCHWAHN, MA *et al.* (2007), como:

mesocristal é uma classe fascinante de materiais cristalinos. Eles são cristais coloidais resultando de transformações mesoscópicas de conjuntos de nanopartículas. As unidades construtoras são nanopartículas em um registro cristalográfico com o efeito que os mesocristais se dispersam como monocristais e também frequentemente exibem faces externas, mas são policristalinos (SCHWAHN, MA *et al.*, 2007).

Este tipo de organização procede por eventos repetidos de ligação de partículas cristalinas com faces (sistemas) de cristais específicos que

se cruzam por correspondência e com alinhamento cristalográfico. Estas descobertas mostram que alguns sistemas em cristalização podem ocorrer por ligação de uma vasta gama de espécies mais complexas do que simples íons. Na Figura 34 do trabalho de De Yoreo, Gilbert *et al.* (2015) há esquematizações de diferentes modos clássicos para fixação de partículas e processos mais complexos e mesocristais em contraste com a clássica construção monômero por monômero.

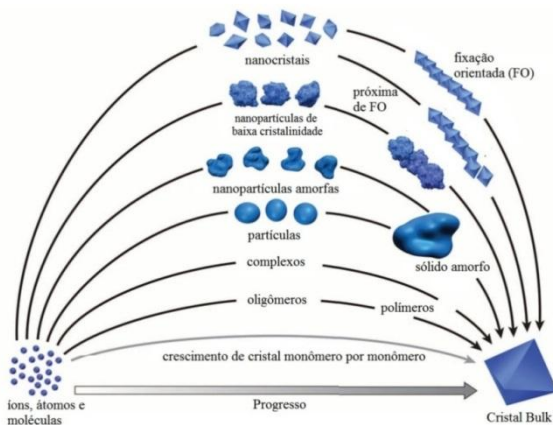


Figura 34: Diferentes processos de nucleação e cristalização de sólidos. Por exemplo, crescimentos clássicos de cristal, meios mais complexos e específicos por alinhamento de alta ordem a partir de multi-íons formando nanoestruturas. A visualização final do *bulk* do cristal representa um estado de monocristal (adaptado) (DE YOREO, GILBERT *et al.*, 2015).

Em trabalho atual publicado em julho de 2015 por Yoreo *et al.* (2015) é explicado que

a cristalização por ligação de partículas apresenta aspectos fundamentais desconhecidos: a interação de estruturas de solução, as forças de interface e o movimento das partículas. E o entendimento destes fatores proverá um melhor conhecimento da formação biomineral com bases físicas que originam determinadas composições, assinaturas isotópicas e hábitos cristalinos (morfologias) (DE YOREO, GILBERT *et al.*, 2015).

A Figura 35 exemplifica estes processos de cristalização, onde a partícula é influenciada pela estrutura do solvente e íons da interface sólido-solução e as regiões confinadas entre a solução e a superfície do sólido que criam forças direcionando os movimentos das partículas.

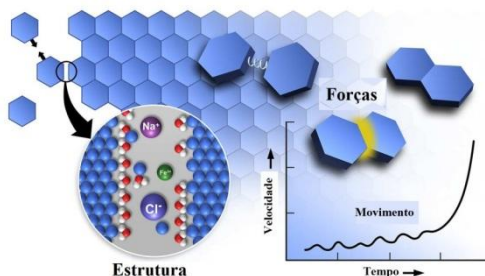


Figura 35: Representação dos movimentos das partículas em função das mudanças de forças que influenciam suas ligações (adaptado) (DE YOREO, GILBERT *et al.*, 2015).

As morfologias dos materiais são estruturalmente um desafio para a síntese de materiais inorgânicos por não apresentar uma relação direta entre a célula unitária dos cristais e a forma macroscópica. Até o presente, o biomimetismo de materiais inorgânicos pode ser quimicamente sintetizado por replicação, auto-organização, morfogênese e metamorfose. Porém, os trabalhos até o momento só têm produzido em laboratório estas complexas estruturas com o uso de aditivos orgânicos e com dificuldades de replicar similarmente o material natural sem o uso de aditivos e que seja o mais fiel ao processo de biomineralização original. (XIA, LAUSMAA *et al.*, 2012). Afinal, como biomimetismo, é necessário simular cada componente presente e meio de crescimento do sistema natural o mais fiel possível.

Adicionalmente, o osso natural desmineralizado e desproteínizado pode ser usado como substituto em articulações (quadril, joelho e outras), atuando como biomaterial. A propriedade de autorregeneração óssea tem inspirado as novas classes de compósitos que têm que apresentar estas propriedades (materiais bioinspirados). Para isto, as análises de materiais biológicos e bioinspirados requerem conhecimentos tanto na área biológica como princípios de engenharia, disciplinas que tradicionalmente não se mesclam.

Adicionalmente, o caráter nanoestrutural dos compósitos biológicos tem importância crítica na análise das respostas mecânicas

dos compósitos biológicos. A figura 36 mostra um gráfico de módulo de Young em função da densidade dos materiais naturais, com materiais sintéticos (cerâmicas, ligas, polímeros, compósitos e cerâmicas porosas) sobrepostos. Nele vemos que polímeros naturais como a lã e o tendão têm baixa densidade, com menos de dois gramas por centímetro cúbico ( $<2 \text{ g/cm}^3$ ) e rigidez com aproximadamente de dez gigapascal ( $\sim 10 \text{ GPa}$ ), enquanto que a maioria dos biominerais têm densidades menores que cinco gramas por centímetro cúbico ( $<5 \text{ g/cm}^3$ ) e com rigidez de aproximadamente cem megapascal ( $\sim 100 \text{ GPa}$ ) (hidroxiapatita e calcita). (MEYERS, M. A., CHEN, P.-Y. *et al.*, 2008). Além disto Pasteris, Wopenka *et al.* (2008) comentam a importância das vantagens de mimetizar os materiais naturais que contêm fosfatos de cálcio e carbonatos de cálcio para as propriedades mecânicas dos materiais sintéticos,

além das essenciais características (não tóxico, não carcinogênico, não alergênico e não trombogênico, biocompatibilidade, osteocondutividade e osteoindutividade) que todos os substitutos ósseos têm que apresentar, também necessita apresentar propriedades mecânicas importantes para que desempenhem suas funções benéficamente. Uma das mais importantes é o módulo de elasticidade, naturalmente o osso como biocompósito apresenta tanto rigidez quanto elasticidade como reflete o desempenho do osso cortical na figura 36. Por isto, comparando com outros materiais como os metais, polímeros e vidros, os fosfatos de cálcio sintéticos têm, em muitos casos, vantagens pela maior similaridade aos componentes e propriedades do osso e apresentam biocompatibilidade mais intrínseca ao material ósseo natural (PASTERIS, WOPENKA *et al.*, 2008).

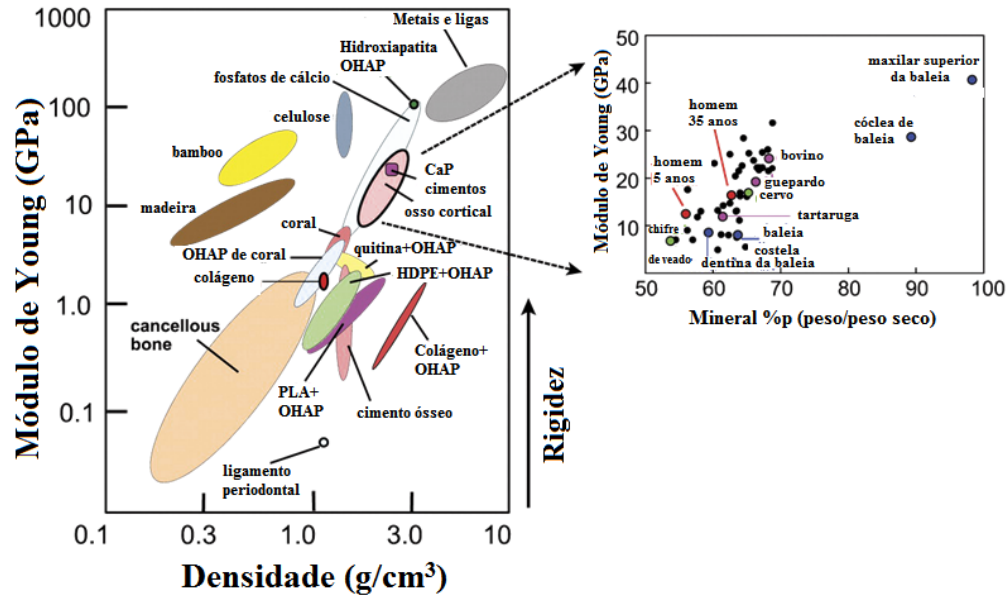


Figura 36: Gráfico em log-log do Módulo de Young (grau de rigidez) e a densidade de osso esponjoso e cortical de materiais naturais, sintéticos e compósitos que podem ser usados como substitutos ósseos e dentários no gráfico maior e no gráfico menor, o módulo de Young (escala linear) plotado contra a porcentagem em peso de parte mineral total de amostras secas de osso cortical de animais. Todas as amostras foram de fêmur ósseo, exceto onde for especificado. Há uma correlação direta entre a porcentagem de mineral e o grau de rigidez. É notado um aumento significativo na mineralização entre o homem de 5 e o de 35 anos com notável aumento da rigidez (adaptado) (PASTERIS, WOPENKA *et al.*, 2008).

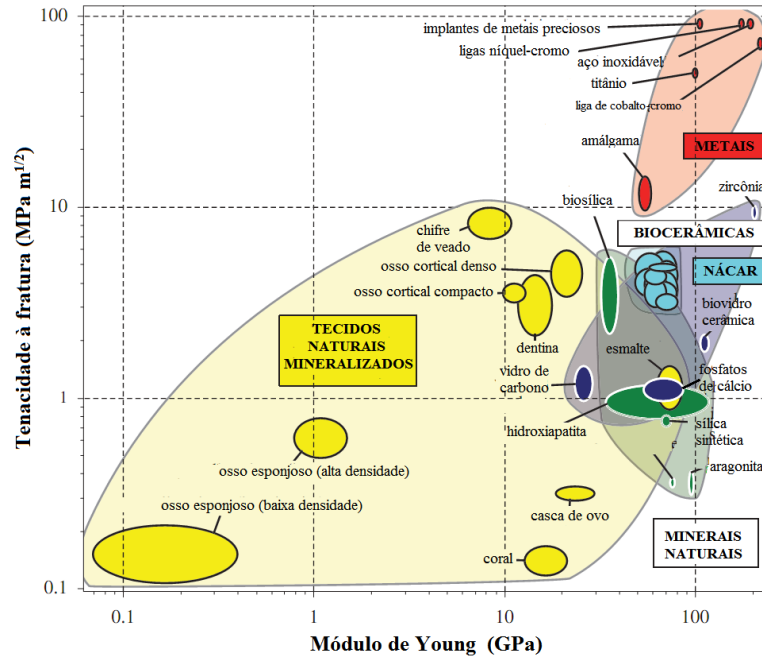


Figura 37: Gráfico de ductilidade à fratura versus módulo de Young de materiais naturais e também sintéticos usados na área de implantes. Muitos deles apresentam propriedades mecânicas elevadas como o titânio e a zircônia, porém importante é a relação tenacidade e sua rigidez e não apenas o mais elevado em apenas um deles. (adaptado) (WEGST, SCHECTER *et al.*, 2010).



Há uma correlação fortemente positiva entre o percentual de mineralização do tecido e seu grau de rigidez. Nota-se na extensão da figura 36, que “tecidos menos mineralizados são mais flexíveis, havendo um aumento significativo na mineralização entre um ser humano com idade de 5 anos e outro com 35 anos, com aumento na rigidez óssea” (PASTERIS, WOPENKA *et al.*, 2008). O percentual de mineralização e sua rigidez refletirão diretamente em sua tenacidade à fratura. A Figura 37 ilustra que estas propriedades têm magnitude quase duas vezes maior entre o osso cortical e o osso esponjoso ou trabecular que é altamente poroso. Requer duas características microestruturas particularmente importantes que é fornecer uma alta porosidade total e apresentar propriedades mecânicas como resistência, rigidez e tenacidade altas (WEGST, SCHECTER *et al.*, 2010 apud HUGUES AND RAKOVAN 2002 e FLEET 2002).

Uma característica importante dos materiais baseados na apatita é sua habilidade em acomodar outros elementos químicos por substituição iônica para melhorar as propriedades mecânicas, como comentado por PASTERIS, WOPENKA *et al.* (2008),

mineralogistas, cristalógrafos, geoquímicos, paleontologistas, médicos (principalmente ortopedistas), odontólogos, pesquisadores e engenheiros atuantes na área de biomateriais concordam com um aspecto em particular, o foco principal é a apatita, que tem estrutura suficientemente maleável para acomodar quase metade dos elementos da tabela periódica através de substituição iônica. Há algumas regras absolutas e algumas obrigatoriamente acidentais com relação à otimização das propriedades minerais da apatita. Entretanto, a apatita tem sítios atômicos com inúmeras diferenças de forma e tamanhos, com uma grande faixa de íons possíveis de substituição em cada um deles (PASTERIS, WOPENKA *et al.*, 2008).

“A concha de abalone é comparada similarmente em sua estrutura organizacional a do osso que apresenta placas de HAP intercaladas com fibras orgânicas colágenas no lugar da quitina no caso da concha” (MEYERS, M. A., CHEN, P. Y. *et al.*, 2008), como ilustrado na Figura 38. Comparando o grau de rigidez do material nácar (concha de abalone) com o osso trabecular e o cortical, a rigidez do nácar é de 5 a 50x maior

em comparação ao osso trabecular e 3,5 a 7x maior que osso cortical (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012; YAO, EPSTEIN *et al.*, 2006).

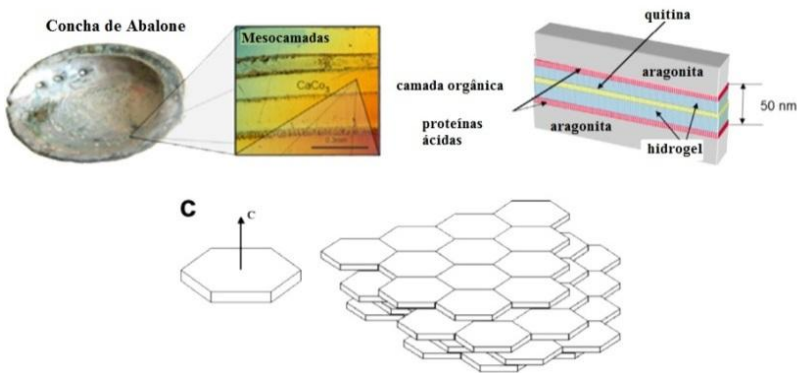


Figura 38: Estrutura hierárquica da concha de abalone: No primeiro nível tem-se mesocamadas de  $\sim 300 \mu\text{m}$  de espessura, separada por  $20 \mu\text{m}$  de material orgânico. As camadas de  $\sim 300 \mu\text{m}$  são compostas por placas de aragonita ( $\text{CaCO}_3$  ortorrômbico) (95 %p) mantendo-os juntos por uma camada de 10-50  $\mu\text{m}$  de biopolímero (5 %p) e por pontes minerais de  $\sim 50 \text{ nm}$ . As placas hexagonais, com 8-10  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $\sim 0,4 \mu\text{m}$  de espessura, cresce na direção do eixo-c da face (001). Entre as camadas orgânicas e as placas estruturadas como sanduíche comprimido como um núcleo central de fibras de quitina e as camadas superficiais com poros com diâmetro de 5-80 nm (CHEN, MCKITTRICK *et al.*, 2012).

Em um nível base, a anisotropia microestrutural encontrada no osso cortical e no nácar (madrepérola) fornece a alta propriedade mecânica, com a resistência à compressão, ver Figura 39, e estão diretamente relacionados com a orientação, alinhamento e uniformidade das microestruturas em camadas no osso e nácar. Portanto, o abalone é um importante material a ser biomimetizando estruturalmente para melhorar as propriedades mecânicas de novos materiais.

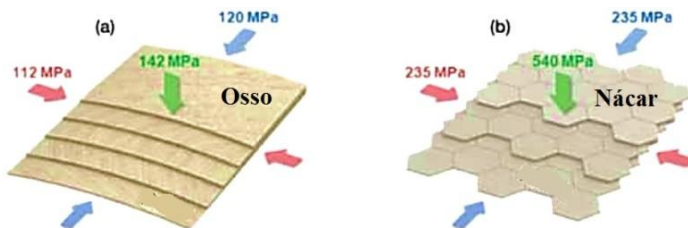


Figura 39: Resistências à compressão oriundas das anisotropias microestruturais. (a) o osso cortical tem uma microestrutura lamelar retorcida como madeira compensada. (b) o nácar da abalone segue uma microestrutura com morfologia tipo parede de tijolos e argamassa (PORTER E MCKITTRICK, 2014).

Segundo Aquilano, Bruno *et al.* (2015) e comparativamente ao hábito cristalino pseudo-hexagonal presente nos cristais de aragonita do nácar da concha de abalone,

a forma do cristal hexagonal perfeito externamente disfarça o processo complexo do seu crescimento, em que o sistema monoclinico é dominado desde a fase inicial de nucleação. O polimorfo do sistema monoclinico da HAP é representado não como um monocristal, mas por uma fina textura de maclas através de pequenos domínios de cristais em crescimento que são visualizados pontos de simetria de hábito cristalino pseudo-hexagonal. A fase inicial é caracterizada por um crescimento excessivo de polimorfos monoclinicos geminados, enquanto que na segunda fase, há formação completa do cristal único com hábito cristalino pseudo-hexagonal (AQUILANO, BRUNO *et al.*, 2015).

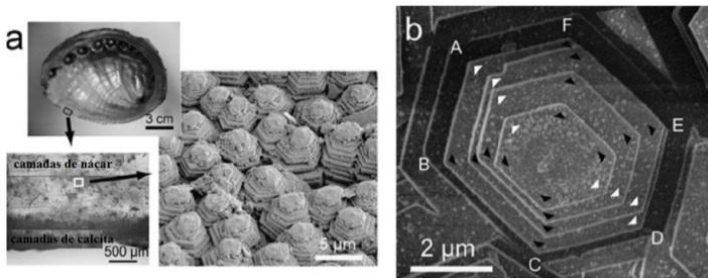


Figura 40: Na concha de abalone (a), o nácar consiste de crescimento de cristais com hábito pseudo-hexagonal de aragonita. (b) pilhas de cristais com hábito hexagonal ligeiramente alongada na diagonal A-D comum a todos na pilha (adaptado) (MUKAI, SARUWATARI *et al.*, 2010).

Portanto, vê-se na aragonita do nácar da concha de abalone a correlação entre o sistema monoclinico do cristal com o hábito cristalino pseudo-hexagonal. Em outros exemplos naturais, há correlação do mesmo sistema monoclinico com o hábito pseudo-hexagonal, como no material da Figura 41, vê-se o mimetismo da estrutura mineral da hematita (óxido de ferro) rosa que, segundo referência, pode assumir simetria monoclinica do grupo espacial C2/c a partir de distorções do sistema cristalino trigonal R-3c, com diferença relativa entre constantes da rede monoclinica e hexagonal da ordem de  $10^{-4}$  (PRZENIOSŁO, SOSNOWSKA *et al.*, 2014). Em outro trabalho, pesquisadores encontraram relação desta fase de hematita e sistema monoclinico com o hábito cristalino hexagonal dos cristais e constataram a influência da posição das hidroxilas na rede nesta formação (CUDENNEC E LECERF, 2006; WALTER, 2006). Outro exemplo de sistema monoclinico formando hábito cristalino é o mineral moscovita (filossilicato), como visto na Figura 42, do grupo da biotita (“mica ferro”).



Figura 41: Imagem de minério de hematita rosa, que tem sistema monoclínico, com crescimento similar em espiral do tipo empilhamento de moedas em camadas, formando o hábito cristalino pseudohexagonal (MATTEO, 2008).



Figura 42: Múltiplos cristais de moscovita do sistema monoclínico com crescimento similar em espiral do tipo empilhamento de moedas em camadas e formando o hábito cristalino pseudohexagonal (ZE PINTO PROSPECT).

Dito isto, as pesquisas e o desenvolvimento nesta linha de materiais deve-se, além de se preocupar com a composição majoritária dos materiais, devem também se ocupar de identificar sua estrutura cristalográfica (sistema cristalino), relacionar com seu hábito cristalino (morfologia), buscar mimetizar os naturais com mesmas relações e levar em consideração qualquer impureza ou elemento dopante que possa influenciar todos estes elementos que podem ter como consequência final um material com melhores propriedades mecânicas.

#### 4.5 Substituições iônicas em rede cristalina da hidroxiapatita (HAP) e aplicações.

Segundo Leventouri (2006), “as múltiplas substituições e deficiências em vários sítios iônicos das HAP’s biológicas afetam várias de suas propriedades”. Naturalmente o osso apresenta elementos químicos como impurezas em seu meio e eles são importantes por ter influência no aumento da osteogênese e neovascularização, dentre eles estão presentes o zinco, magnésio, silício e estrôncio. Na Tabela 6 apresentam-se funções e mecanismos de íons usados como dopantes, substitutos iônicos ou “impurezas” em fosfatos de cálcio para aplicações em saúde. A incorporação de dopantes (traços de íons metálicos) na rede de fosfatos de cálcio pode aumentar a regeneração óssea (BOSE, FIELDING *et al.*, 2013). Por esta razão, há hoje um grande interesse em investigar a consequência de substituições iônicas em diversas características e propriedades de materiais como a hidroxiapatita para, por exemplo, melhorar suas biocompatibilidade e funções no meio biológico (MOSTAFA, F.H. , *et al.* 2009).

Dentre os vários trabalhos realizados, já foi observado, por exemplo, no estudo dos parâmetros de rede das apatitas, que o tamanho dos cristais pode diminuir ou aumentar a área de superfície comparativamente à HAP estequiométrica (RZ, 1991), afetando as reações químicas destes materiais. A adição de carbonatos, silicatos e estrôncio afetam a rede cristalina e causam a aceleração da dissolução da HAP; por outro lado a presença de flúor provoca o efeito inverso (BARRÈRE F., 2006; CARL LINDAHL, 2012). Como também, promovem mecanismos de aumento de bioatividade em superfícies de implantes promovendo a formação óssea e melhorando sua osteointegração (BALLO, XIA *et al.*, 2012). O estrôncio tem efeitos osteoblásticos relacionados com expressões gênicas da *Cbfa1* (fator transcripcional associado com diferenciação osteoblástica), a osteonectina e fosfatase alcalina (FU, JIANG *et al.*, 2012). Geologicamente, o estrôncio na apatita é usado como indicador petrogênico e para datações geológicas. Como também pode ser usado com retentor de elemento radiativo, oriundo de lixo radioativo em decorrência do decaimento do U (Urânio).

Tabela 6: Funções de íons metálicos e seus mecanismos de ação no sistema corpóreo (adaptado) (BOSE, FIELDING *et al.*, 2013).

	Função	Mecanismo de ação
$\text{Li}^+$	Osteogênese	Inibe GSK3 (glicogênio sintase quinase 3), que é um regulador negativo de sinalização intracelular Wnt. Ativa $\beta$ -catenina mediada de fatores de célula T (TCF) durante a transcrição da regeneração de fraturas ósseas e de cartilagens. $\beta$ -catenina é conhecida com função central mediadora em sinalização canônica intracelular Wnt.
$\text{Zn}^{2+}$	Osteogênese	No microambiente celular, o zinco atua no processo de reabsorção osteoclástica e estimula o processo de construção osteoblástica óssea.
$\text{Mg}^{2+}$	Angiogênese	Magnésio induz a produção de óxido nítrico em células endoteliais que são essencialmente o mesmo mecanismo que o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) usado para induzir a angiogênese.
$\text{Sr}^{2+}$	Osteogênese	O estrôncio estimula a formação óssea por modo duplo de ação: um papel estimulador sobre os osteoblastos formadores de osso e um papel inibidor de reabsorção óssea osteoclastos. Ele ativa uma gama de vias de sinalização. Isto promove a proliferação de osteoblastos, diferenciação e sobrevivência; ao mesmo tempo, que induz apoptose em células de osteoclastos resultando em diminuição da reabsorção óssea. O sensor receptor CaSR ativa os osteoblastos e simultaneamente aumenta a produção de OPG (fator inibidor de osteoclastogênese) e diminui a expressão do RANKL (ligante de atividade osteoclástica). OPG é uma proteína que inibe RANKL que induz osteoclastogênese.
$\text{Cu}^+$	Angiogênese	O cobre indutor da angiogênese, provavelmente causado pela regulação da expressão VEGF. Cobre induz toxicidade em altas concentrações, podendo gerar ROS (espécies reativas de oxigênio) na presença na presença de ânions radicais superóxidos. O ROS induz dano oxidativo nas células através da quebra do DNA e suas bases de oxidação.
$\text{Co}^{2+}$	Angiogênese	Acredita-se que o $\text{Co}^{2+}$ induz hipóxia celular pela estabilização de HIF-1 $\alpha$ (fator indutor de hipóxia). As células compensam a hipóxia pela expressão de genes (tanto VEGF e EPO) que promovem neovascularização e angiogênese. Cobalto indutor de toxicidade:., cobalto pode causar dano oxidativo em células pelo ROS. Aumento dos níveis de íons solúveis de $\text{Co}^{2+}$ pode causar sérias reações adversas em volta dos tecidos como também toxicidade sistêmica. Íons de $\text{Co}^{2+}$ podem ativar e aumentar a reabsorção osteoclástica óssea na diferenciação celular, resultando na osteólise, soltura e afrouxamento asséptico de implantes.
$\text{B}^{3+}$	Osteogênese/angiogênese	Desempenha papel na regulação positiva de TGF- $\beta$ (fator de transformação de crescimento beta) e VEGF
$\text{Mn}^{2+/3+}$	Osteogênese	Apresenta implicações na sinalização PTH (ativador de várias vias de sinalização), fator regulador de cálcio. Acredita-se que MnSOD (mangânes dependente de enzima superóxido dismutase) neutraliza a formação do ROS, que contribui o aumento da osteoclastogênese e decresce a osteoblastogênese.
$\text{Si}^{4+}$	Osteogênese/angiogênese	Tem mostrado ser indutor de angiogênese pela regulação do NOS (óxido nítrico) conduzindo o aumento de produção de VEGF. Mecanismos osteogênicos são bem entendidos, mas o $\text{Si}^{4+}$ tem se mostrado com um papel importante no processo de mineralização.

Na área geológica, defende-se que o entendimento do comportamento do estrôncio na estrutura da apatita mineralógica é importante por causa das ocorrências na natureza (BRUAND, STOREY *et al.*, 2014; RAKOVAN E HUGHES, 2000). O flúor presente na apatita dental confere ao esmalte mais baixa dissolução e aumento na resistência ao ataque ácido e consequentemente prevenção e proteção contra a ação da cárie dentária (CAZALBOU, COMBES *et al.*, 2004), como também possibilita o aumento da massa óssea em aplicações ósseas (LOWE NM1, 2002). O cobre aumenta a resistência óssea e o zinco estimula a atividade osteoblástica *in vitro* e inibe a reabsorção óssea *in vivo*, (REN, XIN *et al.*, 2009) quando substituem parcialmente os íons  $\text{Ca}^{2+}$  na estrutura da apatita (LEONE FA, 1995). O manganês estimula a fosfatase alcalina *in vivo* e *in vitro*, sendo esta uma função importante utilizada na marcação radioativa, ao remover grupos fosfatos e incorporar elementos radioativos (PABBRUWE, STANDARD *et al.*, 2004). O estrôncio, elemento usado na substituição iônica nesta tese, tem a função importante de aumentar a massa óssea, estimular a formação óssea e reduzir a sua reabsorção (MARIE, 2004; PAN, LI *et al.*, 2009; WONG, WONG *et al.*, 2009). Além disso, observou-se também que a incorporação de estrôncio em compósitos de HAP melhora as propriedades mecânicas do material e assim, é bastante útil em aplicações na área ortopédica (YANG, QUAN *et al.*, 2008).

Outros tipos de incorporações também apresentam resultados de interesse na área de saúde, como a inserção de lantanídeos ou terras raras para produzir uma HAP luminescente com mesoporos para o uso em distribuição de fármacos, com monitoramento controlado no meio corpóreo. Em terapia por hipertermia, para tratamento de câncer, tem-se pesquisado a produção de nanopartículas magnéticas de HAP com incorporação de  $\text{Fe}^{2+}$  em sua estrutura visando à injeção em volta do tumor a fim de induzir a alteração por campo magnético provocando um aquecimento local no intuito de destruir o tumor cancerígeno (FASS, 2008). Pesquisas recentes estudam a incorporação de iodo radioativo ( $^{131}\text{I}$ ) em hidroxiapatita porosa para uso em implantes locais em tumores cancerígenos (LACERDA, LAMEIRAS *et al.*, 2007; LACERDA, LAMEIRAS *et al.*, 2009).

Adicionalmente, também se encontram aplicações para as HAP sintéticas na área de imagens biomédicas, a qual é um dos principais pilares para a compreensão do câncer, possibilitando vantagens no diagnóstico e monitoramento em tempo real do tecido, com o mínimo ou nenhum procedimento invasivo. Atualmente nos EUA, dois traçadores com HAP são autorizados pela FDA (Food and Drug Administration,



órgão governamental dos Estados Unidos responsável pelo controle de alimentos, suplementos alimentares, medicamentos, cosméticos, equipamentos médicos, materiais biológicos e produtos derivados do sangue humano) para serem utilizados no diagnóstico e monitoramento de imagem oncológica por PET (Tomografia por emissão de pósitrons): onde os marcadores  $^{18}\text{F}$ -FDG e o  $^{18}\text{F}$ -NaF<sub>2</sub> são incorporados em cristais de HAP para gerar imagens de tumores ósseos. Desenvolvimentos futuros com nanopartículas como biomarcadores em tumores são bastante promissores nesta aplicação (FASS, 2008).

Em específico no caso do uso dos íons de estrôncio, foco desta tese, apresenta-se com apenas 0.035 %p no sistema esquelético, mas tem importantes funções. Ele tem a função de auxiliar a regeneração óssea quando enxertado no corpo através da mediação do processo osteoclástico, atuando por dois modos, ver Tabela 6, Bose Fielding *et al.*, (2013) explicam como ocorre estes modos de ações do Sr bioquimicamente no osso,

o primeiro é ativando os receptores de cálcio (CaSR) nos osteoblastos, que aumenta simultaneamente a produção de osteoprotegerina (OPG) e o decréscimo da expressão do fator do receptor ligante ativador nuclear kappa beta (RANKL) indutor de osteoclastogênese. A relação OPG/RANKL pode ser um poderoso regulador da reabsorção óssea e a osteoclastogênese (BOSE, FIELDING *et al.*, 2013).

A figura 43 (A) mostra o esquema de como o estrôncio atua na estimulação da formação óssea pelas células osteoblásticas e a inibição dos fatores de reabsorção das células osteoclasticas e com o detalhamento do mecanismo de ativação osteoblástica na figura 43 (B).

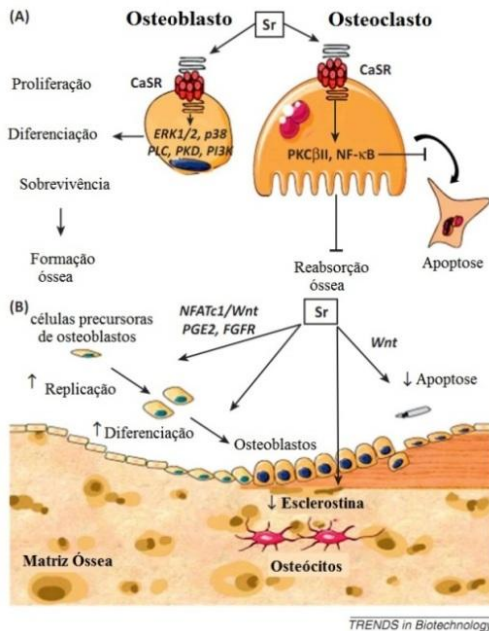


Figura 43: Em (A) tem-se a sequência de ação do estrôncio (Sr) na formação óssea através da estimulação dos osteoblastos e ao mesmo tempo a inibição da reabsorção óssea. Esta ação nos osteoblastos ocorre pela ativação do sensor chamado (CaSR), onde o mesmo sensor poder induzir apoptose (morte) celular pelos osteoclastos e diminuir a reabsorção óssea. Pela via (B), o estrôncio atua no fator chamado Wnt que ativa fatores de crescimento fibroblásticos e proteoglicanos nas células osteoblásticas (adaptado) (BOSE, FIELDING *et al.*, 2013).

As substituições iônicas a nível cristalográfico são recentes e é conhecida a facilidade de trocas iônicas na rede da HAP e que além de poder afetar suas propriedades biológicas, também pode alterar diversas outras propriedades do material, como as mecânicas. Porém, antes de alcançar este nível é necessário estudos e análises da síntese dos fosfatos de cálcio para haver o domínio de sua produção, direcionando em seguida para as aplicações de acordo com o tipo de dopante e efeito alcançado.

As trocas iônicas na HAP ocorrem por dois fatores: similaridade do tamanho do raio iônico e eletronegatividade. O espaço que ocupa o íon de cálcio (0,10 nm) tem que ser próximo do raio iônico de outro íon para haver a troca de elemento que precisam ter raios entre 0,09 - 0,13

nm. E soma-se a isto a possibilidade de trocas iônicas por elementos com maior eletronegatividade que o  $\text{Ca}^{2+}$  (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

A HAP apresenta dois sítios de cálcio, o Ca-1 e o Ca-2, como visto na figura 44, que podem ser substituídos por outros cátions divalentes. Segundo Matsunaga, Inamori *et al.*, (2008) o cálcio 1 e cálcio 2 estão arrançados diferentes espacialmente, as configurações destes sítios estão ilustradas na figura 45 e figura 46.,

o Ca-1 tem em volta seis fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) em tetraedro, em que seis íons de oxigênios estão nos vértices do  $\text{PO}_4^{3-}$  localizados nos primeiros sítios e vizinhança próxima (VP) e 3 oxigênios adicionais estão no segundo sítio VP. O sítio de Ca-2 é também coordenado por seis átomos de oxigênio no primeiro sítio VP, um átomo de oxigênio que pertence ao grupo hidroxila (OH) e adicionalmente um átomo de oxigênio localizado no segundo sítio VP. Entretanto, nota-se que a diferença de coordenação atômica entre os dois sítios de cálcio que em alguns momentos descrevem-se pelos números de coordenação do oxigênio com a segunda VP, com coordenação atômica nove para o Ca-1 e sete para o Ca-2 (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

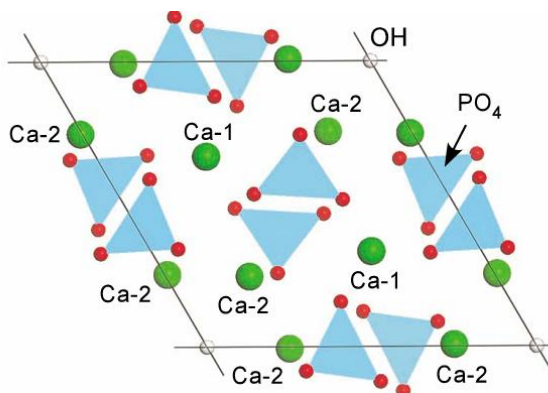


Figura 44: Estrutura da célula unitária de HAP vista ao longo do eixo-c e os respectivos sítios de Ca-1 e Ca-2 (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

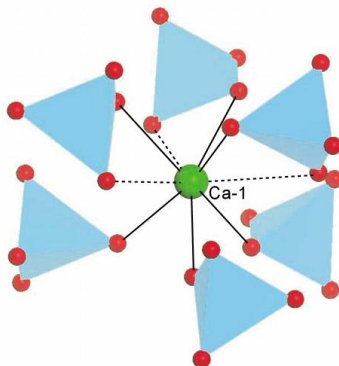


Figura 45: Posições atômicas em torno do sítio Ca-1. Os primeiros sítios da VP de oxigênio estão representados pelas linhas contínuas e a segunda VP pelas linhas pontilhadas (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

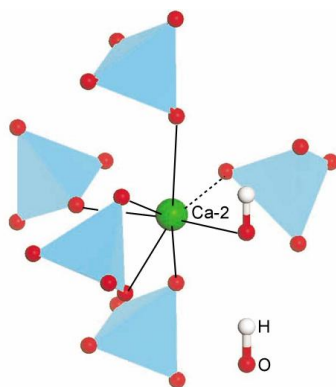


Figura 46: Posições atômicas em torno do sítio Ca-2. Os primeiros sítios da VP de oxigênio estão representados pelas linhas contínuas e a segunda VP pelas linhas pontilhadas (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

Quando íons externos divalentes substituem o Ca-1, as distâncias atômicas para o Ca-1 são extremamente dependentes do tamanho iônico, ver figura 47. Matsunaga, Inamori *et al.* (2008) aprofundou em detalhes o comportamento de algumas substituições e explica comportamento espaciais e sua influência na rede do cristal,

para os menores cátions de  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , a primeira VP dos íons de oxigênio tendem a se mover em direção ao sítio Ca-1 (mais de 7% de relaxação em média), enquanto que o segundo sítio na VP de oxigênio se estende para fora da relaxação em mais de 10% de distância. Isto porque o primeiro e segundo sítios da VP dos oxigênios estão situados nos vértices adjacentes do tetraedro  $\text{PO}_4^{3-}$  e as substituições de raios deslocam para dentro o tetraedro  $\text{PO}_4^{3-}$  em direção ao sítio Ca-1. Porém, a relaxação interior em volta dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  simultaneamente vai para mais perto dos íons de oxigênio e então, os grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  rotacionam para minimizar a repulsão eletrostática entre os íons de oxigênio nos vértices. Como resultado, os segundos sítios da VP dos oxigênios movem para longe do sítio Ca-1, como visto na figura 44. O que ocorre também com o íons  $\text{Cd}^{2+}$ , embora a relaxação atômica seja menor pela similaridade em raio atômico com os íons  $\text{Ca}^{2+}$  (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

No caso dos íons divalentes com maior raio atômico ( $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ) inseridos no sítio Ca-1, a primeira VP de sítios de oxigênio desloca-se para posições mais distantes do sítio. Por exemplo, a distância Ba-O da primeira VP é aproximadamente 9% maior que a da ligação Ca-O (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008; MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

Königsberger e Königsberger (2007) relatam a influência dos íons de estrôncio com a formação da monetita,

o estrôncio (Sr) pode induzir por substituição iônica uma fase interior secundária de monetita quando usado a relação  $\text{Sr}/(\text{Sr}+\text{Ca})$  mais elevada com o teor de  $\text{Sr}^{2+} > 20$  at.% e que o aparecimento da monetita é relacionada à mudança de pH. A diferença de solubilidade da brushita e monetita significa que o equilíbrio das soluções, entre os dois, não é suficientemente saturada em relação à indução de nucleação da monetita (DCPA). (KÖNIGSBERGER E KÖNIGSBERGER, 2007).

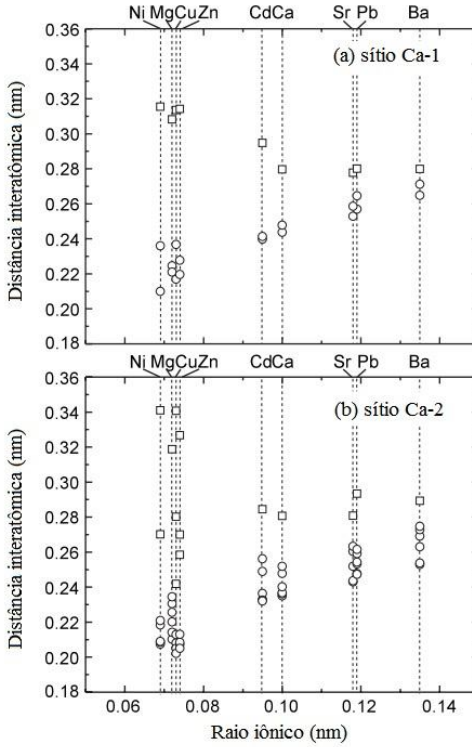


Figura 47: As distâncias interatômicas dos íons Ca na vizinhança dos íons de oxigênio em relação ao raio atômico dos cátions substitucionais. Os círculos abertos representam a VP do Ca-1 e os quadrados abertos representam a VP nos oxigênios (adaptado) (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008).

As distâncias interatômicas para íons substitucionais no sítio Ca-2 e sítio de Ca-1 são similares, dependendo do raio iônico do íon substitucional. Porém, a configuração atômica do sítio de Ca-2 na rede da HAP original exibe menor simetria que o Ca-1, e então os cátions substituídos podem provocar grande variação das distâncias destes sítios em relação aos de oxigênio. (MATSUNAGA, INAMORI *et al.*, 2008; MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

Em termos de energia substitucional, há diferença entre os cátions divalentes pela troca com os íons  $\text{Ca}^{2+}$  na HAP. A formação de energia substitucional dos cátions divalentes versus o raio iônico foi estudada experimentalmente, ver figura 48. Baseado na energia total  $E_t$  de

supercélulas de HAP com e sem defeitos substitucionais, a energia de formação substitucional ou energia de defeito de formação ( $\Delta H_f$ ) são referenciados na literatura. Quando o íon substitucional  $M^{2+}$  é introduzido na HAP por trocas com o  $Ca^{2+}$ , o ( $\Delta H_f$ ) pode ser dado como (MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010):

$$\Delta H_f = E_t(\text{defeituoso}) - E_t(\text{perfeito}) + \mu_{Ca^{2+}} - \mu_{M^{2+}} \quad (1)$$

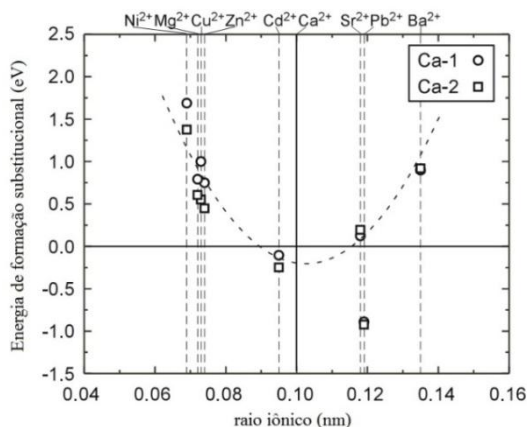


Figura 48: Gráfico de energia de formação substitucional de cátions divalentes versus raio iônico. Neste caso, a energia de formação corresponde a experimentos em pH = 7,0. A quebra da curvatura parabólica é desenhada para realçar a tendência geral das energias de formação contra o raio iônico (adaptado) (MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

Com isto, a energia total livre de Gibbs no sistema da HAP antes e depois da formação do defeito é aproximada pelos primeiros princípios de energias totais das supercélulas. Isto porque a contribuição do  $pV$  (pressão da vizinhança e volume do sistema) para a energia livre de Gibbs é insignificante em relação à pressão normal no caso de sistema sólido (MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

No caso específico do metal divalente  $Sr^{2+}$ , Matsunaga e Murata, (2009) modularam computacionalmente e relataram a dependência do pH,

a substituição de  $Sr^{2+}$  pelo  $Ca^{2+}$  em fosfato de octacálcio (OCP), o defeito de energia de

formação na energia total em supercélulas e potenciais químicos iônicos de  $\text{Sr}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  determinou-se o equilíbrio químico com solução aquosa saturada com HAP. Com o defeito de energia de formação dependente na solução do pH e dos sítios substitucionais no OCP. O equilíbrio químico entre o OCP ou HAP e a solução aquosa saturada com relação à HAP assume a quantificação dos potenciais químicos dos íons  $\mu_{\text{Ca}^{2+}} - \mu_{\text{Sr}^{2+}}$  na equação (2) (MATSUNAGA E MURATA, 2009).

$$\Delta H_f = E_t(\text{defeituoso}) - E_t(\text{perfeito}) + \mu_{\text{Ca}^{2+}} - \mu_{\text{Sr}^{2+}} \quad (2)$$

Então, dependendo do pH na síntese e as concentrações dos íons, determinará o quanto haverá inclusão de íons Ca e Sr na determinação de qual material de fosfato de cálcio irá ser formado. Pois a neutralidade e equilíbrio entre os íons na formação da estrutura cristalina serão diferentes até sua estabilização. “A concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta com o decréscimo do pH”, como mostrado na figura 49 (MATSUNAGA E MURATA, 2009; MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010). Então, “o potencial químico iônico  $\mu_{\text{Ca}^{2+}}$  na equação (2), depende do pH da solução, de modo que a energia de formação também varia em função do pH” (MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

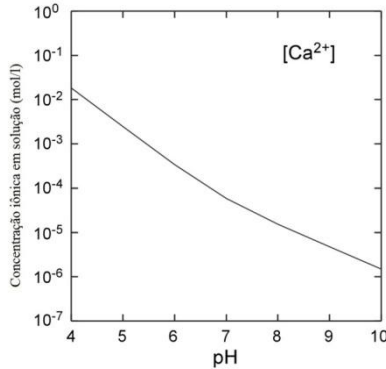


Figura 49: Concentração de íons  $\text{Ca}^{2+}$  em solução aquosa saturada em função do pH (adaptado) (MATSUNAGA, MURATA *et al.*, 2010).

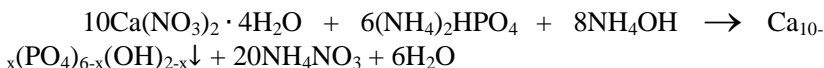


Considerando-se todas as possíveis aplicações citadas e as informações referentes à substituição iônica, fica evidente a necessidade do estudo de processos de preparação de HAP sintética com incorporação de íons (dopagem ou substituição iônica), a análise da influência do pH nas trocas iônicas e seus equilíbrios em diferentes saturações (concentrações) dos elementos químicos na síntese para melhor compreensão dos mecanismos de biomineralização na formação das fases de fosfatos de cálcio e também as consequentes morfologias obtidas para, a partir disto, escolher o material e o processo mais adequado em futuras aplicações na área de saúde.

## 5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 5.1 Síntese de fosfato de cálcio hidroxiapatita (HAP)

Para a produção dos fosfatos de cálcio, usou-se o procedimento de precipitação química de soluções aprimorada. A síntese das biocerâmicas partiu da obtenção de HAP nanoestruturada desenvolvida no laboratório de preparação e caracterização de materiais - LPCM do departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe - UFS, pelo Prof. Dr. Mário Ernesto e Giroldo Valério e José da Silva Rabelo Neto (JOSÉ DA SILVA RABELO NETO, 2006; RABELO NETO, 2009). Através da reação abaixo:



Procede-se gotejando o reagente  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (Reagente analítico Synth N1006.01.AG, P.A.-A.C.S., P.M.=236,15) lentamente (1,5 mL/min.) com uma bureta em um becker contendo o  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (Reagente analítico Synth F1023.01.AG, P.A., P.M.=132,06), com relação Ca/P=1,67. A solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  é utilizada no controle de pH utilizando-se uma bureta. Foram usados 100 mL de cada reagente na reação acima. Após a síntese, as amostras passaram por um tempo de maturação, ficando em repouso em becker por 48 h e posteriormente o líquido foi lavado e filtrado. O material foi então coletado em forma de gel, o qual foi secado a 60°C em estufa por 12 h. Então, realizou-se moagem manual em almofariz para obtenção do pó final do material, como esquematizado na figura 31.

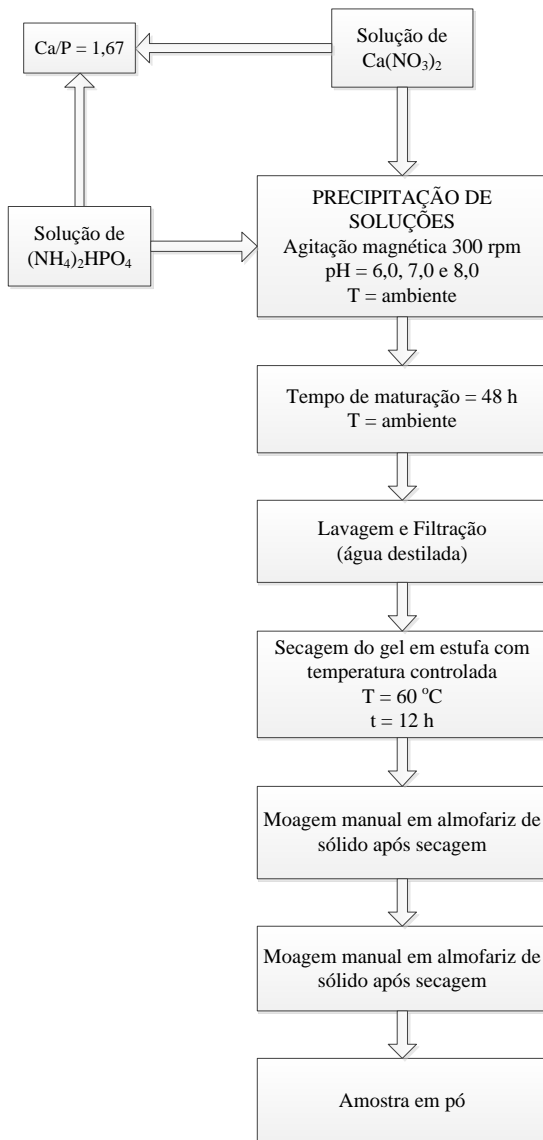
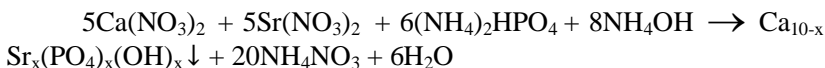


Figura 50: Fluxograma ilustrativo dos procedimentos de produção de fosfato de cálcio.

## 5.2 Síntese com substituição iônica por estrôncio ( $\text{Sr}^{2+}$ )

Na síntese com íons substitucionais, procurou-se analisar a inclusão de íons de estrôncio no material. A partir da reação descrita acima, adicionou-se solução de  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  (Reagente Vetec Cód. 667 P.A., P.M.=211.63) concomitantemente ao gotejamento de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  e  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  com relação  $\text{Ca/P}=1,67$ , tendo a solução de partida de  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  concentrações em at.% de estrôncio iguais a 0 at.% (amostra padrão), 19 at.%, 40 at.% e 53 at.% em meio com  $\text{pH}=6,0$ , 7,0 e 8,0. A velocidade de gotejamento foi de  $\sim 2$  mL/min em agitação magnética de 300 rpm. Através da reação:



Após a síntese, a suspensão foi colocada em tempo de maturação de 48 h a temperatura ambiente. O precipitado, após 48 h, foi lavado e filtrado. Foi também lavado com água destilada e secado em estufa por 12 h na temperatura de  $60^\circ\text{C}$ . Então, procedeu-se a moagem manual em almofariz para obtenção do pó final do material, como esquematizado na Figura 51.

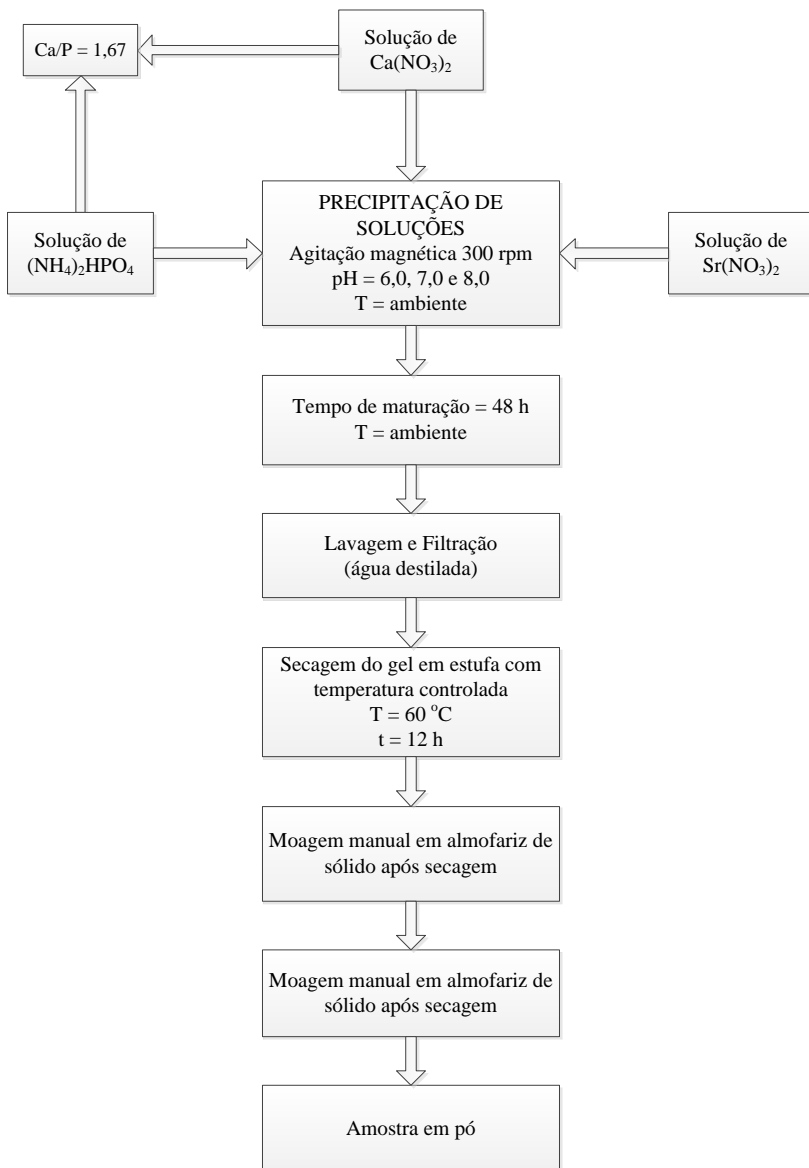


Figura 51: Fluxograma ilustrativo dos procedimentos de produção de fosfato de cálcio com substituição iônica por estrôncio.

### 5.3 Difração de raios-X (DRX)

A difração de raios-X foi executada em equipamento difratômetro Rigaku RINT PC DMAX Ultima+, utilizou-se a geometria Bragg-Bretano com comprimento de onda da radiação  $K\alpha$  do Cobalto (Co) com  $\lambda=1,78901$  e com potência 40 kV/40 mA, em step scan de 5 s com passo de  $0,02^\circ$  no intervalo de  $2^\circ$  a  $50^\circ$ . Depositadas em porta amostra de vidro com adesão em pasta amorfa e retirado excesso de pós. Este é um dos métodos mais usados para a identificação de fases cristalinas de sólidos. O difratograma padrão de uma rede cristalina é característico da substância estudada e a posição das linhas de difração é independente da presença de outras fases na amostra. A técnica não é destrutiva, e apenas pequenas quantidades da amostra em pó são suficientes para a identificação da fase cristalina presente.

Foram identificados, através de análises com o software X'Pert HighScore da Philips, os padrões do banco de dados ICDD: Brushita (PDF 00-011-0293 e PDF 00-009-0077), Monetita (PDF 01-070-1425), Hidroxiapatita (PDF 01-076-0694, PDF 01-071-5049, PDF 00-009-0432, PDF 01-089-5631 e PDF 00-034-0483)

### 5.4 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

As imagens de MEV foram coletadas através do equipamento Zeiss 1550 e JEOL JSM-6510 convencionais com filamento de tungstênio, voltagem de aceleração do feixe entre 5 a 15 kV, abertura do feixe entre 30 a 70 (*spotsize*) com as amostras em pós depositadas em fita de carbono. As imagens foram obtidas com diferentes escalas. As amostras em pós foram depositadas em fita de carbono.

### 5.5 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As amostras foram analisadas por microsonda de energia dispersiva no equipamento JEOL JSM-6510, com voltagem de aceleração fixa em 7,0 keV com coleta de 80 a 100 medidas de grãos de cada tipo de morfologia, como representado na Figura 52 e feita a média estatística por software e análise de dados gráficos e estatísticos Microcal Origin (OriginLab) em at.% de cálcio (Ca), estrôncio (Sr) e fósforo (P).

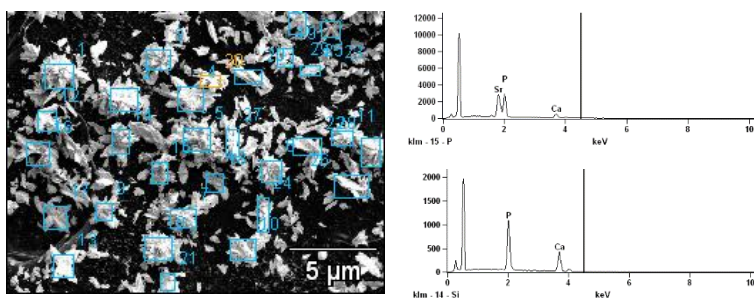


Figura 52: Exemplo de procedimento experimental para coleta de dados de EDS de cada morfologia encontrada nas amostras. Foram feitas de 80 a 100 medidas de cada grão com a mesma morfologia.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse trabalho vem contribuir para a melhor compreensão do efeito de incorporação de íons de Sr no processo de cristalização desta família de biocerâmicas, baseados nos conhecimentos já existentes da família pura e sem substituições iônicas e elucidar pontualmente o aparecimento dos fosfatos de cálcio em pH específico e o comportamento na formação dos cristais em determinadas morfologias, que possam potencializar suas propriedades mecânicas. Assim, passa-se agora à análise dos resultados obtidos.

### 6.1 Amostras sintetizadas em pH=6,0

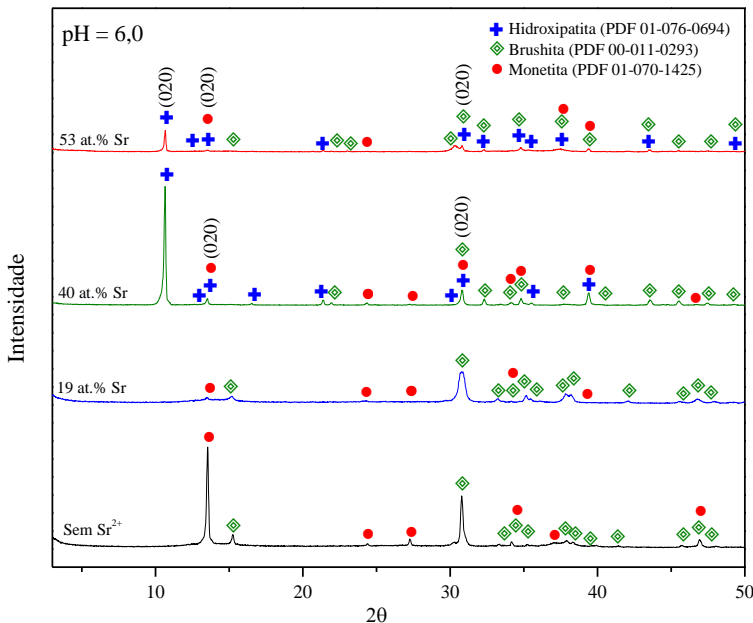


Figura 53: Difratomogramas de amostras sintetizadas em pH=6,0. Visualização de fases cristalográficas: brushita - DCPD (PDF 00-011-0293), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

Na Figura 53 visualizam-se os difratogramas dos quatro grupos de amostras de fosfatos de cálcio sintetizados e as fases cristalográficas encontradas em cada grupo, com o aparecimento de fases de brushita - DCPD (PDF 00-011-0293), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e



hidroxiapatita - HAP ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694) no grupo sintetizado no pH = 6,0. Foi detectada a presença de DCPD e DCPA tanto na amostra sem adição de Sr como na amostra com solução de partida com 19 at.% Sr. Estas fases também foram observadas nas amostras com solução de partida com 40 at.% e 53 at.% Sr. Nestas duas últimas amostras, além de DCPD e DCPA, observou-se a presença da fase de HAP monoclinica.

É comum as fases de fosfato de cálcio brushita (DCPD) e octacálcio (OCP) surgirem quando da reação em ambiente de pH ácido. Esta característica é importante na cristalização de todos os outros materiais da mesma família porque, sendo assim solúveis, são precursores pela cristalização e todos os outros cristais baseados no cristal base apatita. Wang e Nancollas (2008) demonstram que já é bem reconhecida que a cristalização de alguns fosfatos de cálcio envolve a formação de fases precursoras metaestáveis da apatita e hidroxiapatita, que subsequentemente se dissolvem nas reações durante o processo de precipitação até se estabilizarem e formarem estas fases ao término do processo de síntese e cristalização.

Porquanto, fases intermediárias complexas podem participar no processo de cristalização até as fases mais estáveis. A DCPD e OCP que são raramente encontradas em estudos sobre a formação óssea, pois este meio é mais complexo e a sequência de cristalização é de difícil precisão por causa da grande quantidade de íons e moléculas envolvidas que podem ser incorporados dentro da rede da estrutura cristalina ou adsorvidos nos cristalitos e acabam se transformando em outros fosfatos de cálcio rapidamente.

Na tabela 7 e na figura 54 têm-se os quantitativos de Sr em at.% usado na síntese (solução de partida), a relação Ca/P ou Ca+Sr/P e a quantificação em at.% de cálcio e estrôncio nas amostras obtidas. Em particular, na amostra com solução de partida com 40 at.% de Sr, formaram-se dois tipos de cristais: um com a morfologia de pétalas (estrelas) com ~7 at.% Sr nos cristais formados, com morfologia idêntica à da amostra com solução de partida com 19 at.% Sr na síntese que teve inserção de ~4 at.% Sr nos cristais formados.

Na amostra com solução de partida com 40 at.% Sr os cristais apresentaram o hábito cristalino pseudo-hexagonal, quando a inclusão de ~18 at.% Sr no sólido formado. Comparando as relações Ca/P ou Ca+Sr/P apresentadas na tabela em comparação às fases encontradas, verifica-se que estas são relatadas na literatura (DOROZHKIN, 2010b, TAS E BHADURI, 2004, DOROZHKIN, S. V., 2009, CHOW, 2009), porém

as referências são relacionadas a fosfatos de cálcio puros sem adição de íons substitucionais.

O acréscimo pode ser devido ao pH usado que é abaixo das referências e isto influencia a maior ou menor incorporação de íons cálcio na formação dos cristais. Contudo, serão necessários trabalhos futuros objetivando analisar a influência destes fatores nas relações finais de Ca/P ou Ca+Sr/P.

Tabela 7: Quantificação de at.% de  $\text{Sr}^{2+}$  usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Sr}^{2+}$  em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em  $\text{pH} = 6$ .

at.% na síntese	Ca/P ou Ca+Sr/P	Ca (at.%)	Sr (at.%)	P (at.%)
Sr 0%	1,39±0,03	57,81±0,65	---	42,19±0,64
Sr 19%	1,23±0,02	50,97±0,28	4,32±0,57	44,83±0,25
Sr 40%	1,23±0,23	48,25±0,36	6,89±0,07	44,91±0,36
Sr 40%	1,43±0,02	39,72±0,53	18,78±0,46	41,42±0,30
Sr 53%	1,37±0,02	29,60±0,41	28,25±0,21	42,03±0,41

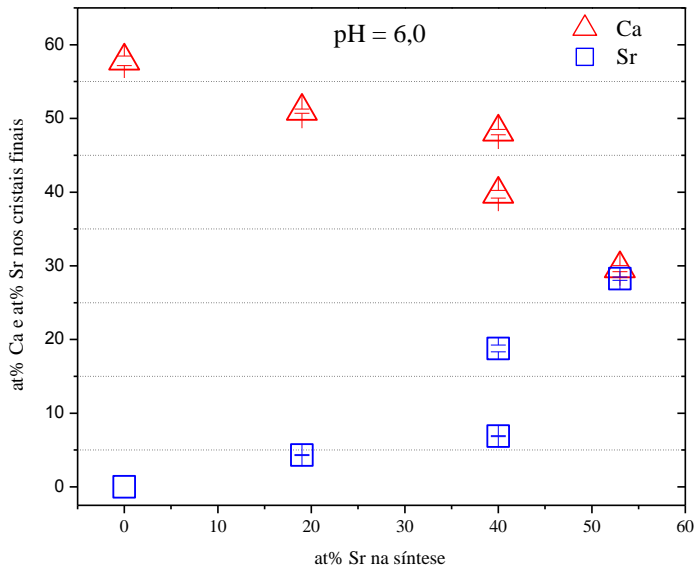


Figura 54: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em  $\text{pH}=6$ . Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados.

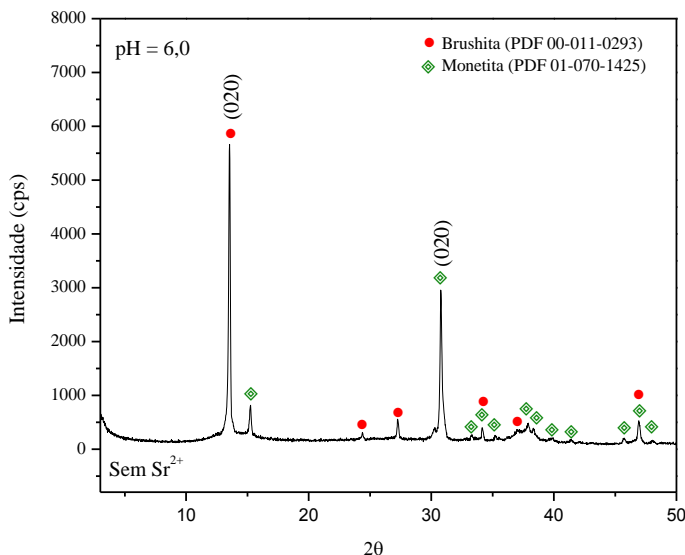


Figura 55: Difratoograma da amostra sintetizada em pH=6 sem adição de estrôncio. Visualização de fase cristalográfica brushita - DCPD (PDF 00-011-0293) e monetita - DCP (PDF 01-070-1425).

Na Figura 55, tem-se o difratograma da fase cristalográfica brushita (DCPD) e monetita - DCP (PDF 01-070-1425) quando efetuada a síntese sem adição de estrôncio em pH=6 (amostra padrão).

Como visto nas imagens da Figura 15 em comparação com a figura 56 e figura 57 (sendo as duas últimas amostras desta tese) e comparando-as, a fase brushita apresenta-se com morfologia de lâminas, placas ou tabular do mesmo modo do que foi observado na literatura (TOSHIMA, HAMAI *et al.*, 2014, GALEA, BOHNER *et al.*, 2013, SIVAKUMAR, GIRIJA *et al.*, 1998, ABBONA, CHRISTENSSON *et al.*, 1993). Com isto, há a comprovação do domínio, por parte do trabalho desta tese, no controle de formação da brushita e sua morfologia típica tabular e usada em aplicações como cimentos ósseos.

Além disto, em cristais de brushita com alto grau de simetria, aparecem hábitos cristalinos prismáticos, tabular, losangos, pseudo-hexagonal ou pseudo-octagonal. Decerto os efeitos da

concentração são aparentes no hábito cristalino final da brushita de acordo com o pH e a supersaturação de íons usados nos experimentos desta tese. É importante para, a partir do controle de síntese da brushita, poder formar quaisquer outros fosfatos de cálcio da mesma família (ABBONA, CHRISTENSSON *et al.*, 1993; BOANINI, GAZZANO *et al.*, 2010a). Quando surge a DCPD e DCP, tanto nas amostras sem Sr como nas amostras com menor inserção deste átomo, as morfologias de placas (tabular) e estrelas são aparentes. Nestes trabalhos é relatado que a conversão entre brushita e monetita ocorre por desidratação. (ABBONA, CHRISTENSSON *et al.*, 1993; SIVAKUMAR, GIRIJA *et al.*, 1998; TAS, 2009; TAS E BHADURI, 2004; TOSHIMA, HAMAI *et al.*, 2014)

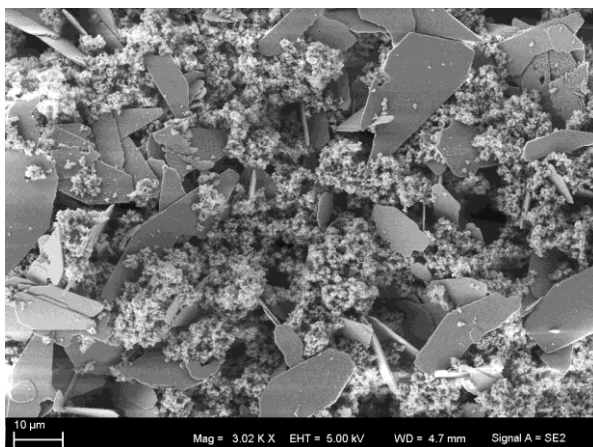


Figura 56: Imagens de MEV de amostras sem adição de estrôncio em pH=6, cristalizou-se o fosfato de cálcio brushita-DCPD e monetita-DCP. Vê-se o hábito cristalino tabular, comum destas fases relatado por TOSHIMA, HAMAI *et al.* (2014).

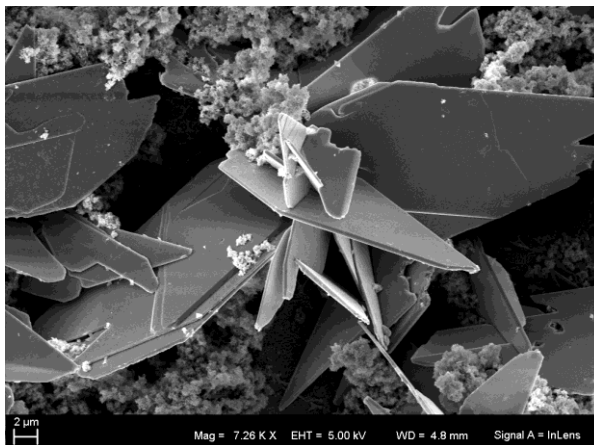


Figura 57: Imagens de MEV de amostras sem adição de estrôncio em pH=6, cristalizou-se o fosfato de cálcio brushita-DCPD e monetita-DCP. Vê-se o hábito cristalino tabular, comum destas fases relatado por TOSHIMA, HAMAI *et al.* (2014).

Na síntese com solução de partida com 19 at.% Sr por precipitação de soluções, houve o aparecimento além da fase brushita, o mesmo comportamento de aparecimento da fase monetita (DCP ou DCPA) em pH=6 na amostra sem Sr, difratograma na Figura 58. A monetita é uma forma anidra da brushita com menor solubilidade, devido à ausência de inclusão de água ou OH na estrutura. E ambas podem ser cristalizadas em solução aquosa até 100 °C (DOROZHKIN, S. V., 2009).

Destarte, conforme Alkhraisat, Moseke *et al.* (2008), “sem a incorporação de íons substitucionais, a monetita é encontrada como fase secundária à brushita em pH abaixo de 4,2”. Na síntese desta tese com 19 at.% de Sr nas soluções de partida em pH=6, de acordo com o difratograma visualizado na Figura 58, visualiza-se o mesmo comportamento entre a sequência de formação de brushita e monetita na incorporação de  $\text{Sr}^{2+}$  na rede cristalina da amostra padrão sem Sr da Figura 55, porém, com diferente comportamento de espalhamento dos raios-x, evidenciando maior espalhamento no plano (020) da monetita na amostra com adição de Sr. Pesquisas com as biocerâmicas brushita e monetita têm aumentado porque descobriu-se recentemente que apresentam boas propriedades biocompatíveis com o meio corpóreo e conduzem rápida transdução óssea, que é a transformação e surgimento

de novo osso após o implante destes materiais no corpo. Mesmo que estas fases apresentem degradação similar à fase fosfato de tricálcio beta ( $\beta$ -TCP), foram pouco estudadas por serem materiais recentes na história dos biomateriais implantáveis (GALEA, BOHNER *et al.*, 2013).

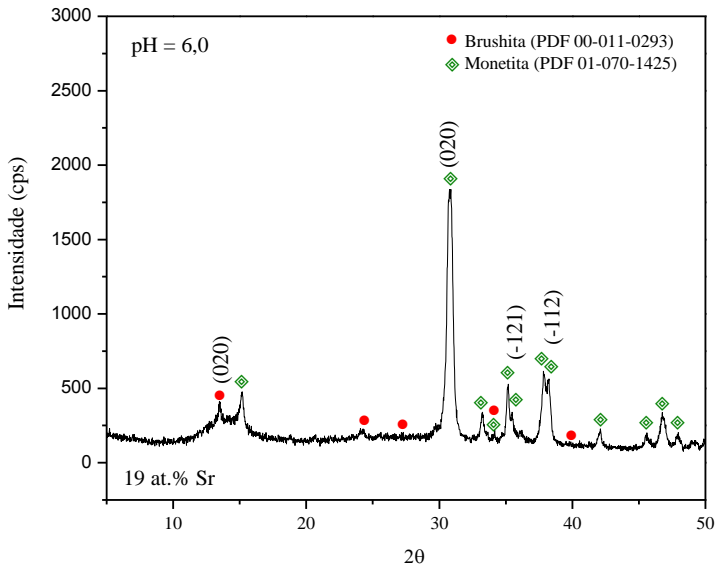


Figura 58: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% Sr em pH=6 na solução de partida e inserção de ~4 at.% Sr no sólido formado. Visualização das fases cristalográficas de brushita - DCPD (PDF 00-011-0293) e monetita - DCPA (PDF 01-070-1425).

Nas imagens da Figura 16, relatado da literatura por TOSHIMA, HAMAI *et al.*, (2014) e em comparação com a figura 59 em amostra desta tese, visualiza-se o rearranjo das lâminas ou folhas, vistas anteriormente na fase única da síntese sem estrôncio (Sr) e que são formações comuns tanto da fase brushita (DCPD) como também da fase monetita (DCPA). Vê-se um arranjo tipo pétalas (estrelas ou *water-lily*) que podem variar segundo a literatura de 800 nm a 10  $\mu$ m, organizadas a partir de nanobastonetes de 20 a 100 nm de espessura (SADAT-SHOJAI, KHORASANI *et al.*, 2013). Segundo Mandel e Tas (2010) esta morfologia de cristais é referente à fase brushita (DCPD), além das

folhas ou placas, chamados de cristais com hábito cristalino *water-lily* (pétalas) ou estrela, como também referentes à fase monetita (DCPA), com orientações preferenciais no plano (010) e (12-1). O plano (010) é equivalente ao (020).

A forma tabular da brushita é característica quando há intensidade no pico de difração no plano (020) que é o visualizado na amostra sem adição de estrôncio e com incorporação de ~4 at.% Sr nos cristais formados, nas imagens de MEV comprova-se o aparecimento desta morfologia. Enquanto que, quando há o aparecimento de outros picos além do (020), tais quais o (-121), (-112) e (-141), como visto nas outras amostras, há o aparecimento das formas de cristais em pétalas, característico da fase monetita conforme citado por Toshima, Hamai *et al.*, (2014) e como visualizado nas imagens da figura 59 desta amostra.

Segundo Tas (2009), “quando a brushita perde OH estrutural, forma-se a monetita anidrido (DCPA)”, ainda, tanto a brushita quanto a monetita, como dito antes, são materiais precursores importantes na formação de apatitas, podendo formar, por exemplo, a partir deles a hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA, Ca/P=1,50) (TAS E BHADURI, 2004). Como relatado nesse trabalho, conseguiu-se o controle da biomineralização para obtenção de outras fases de fosfatos de cálcio a partir do DCPD e DCPA, e assim obter a fase HAP que é importante na aplicação de biomateriais.

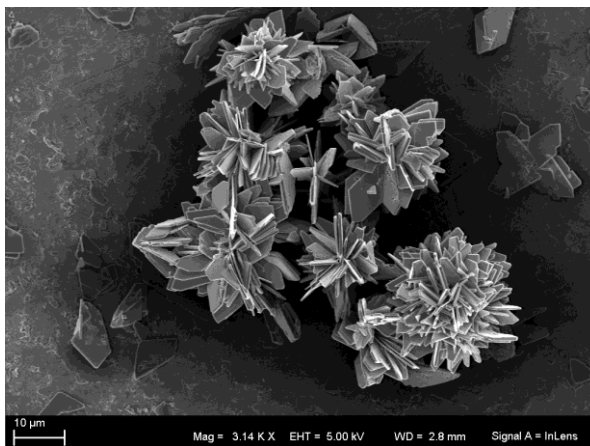


Figura 59: Imagens de MEV da amostra da solução de partida com ~19 at.% Sr em pH=6 e incorporação de ~4 at.% Sr no sólido formado com arranjo de cristais com hábito cristalino em pétalas.

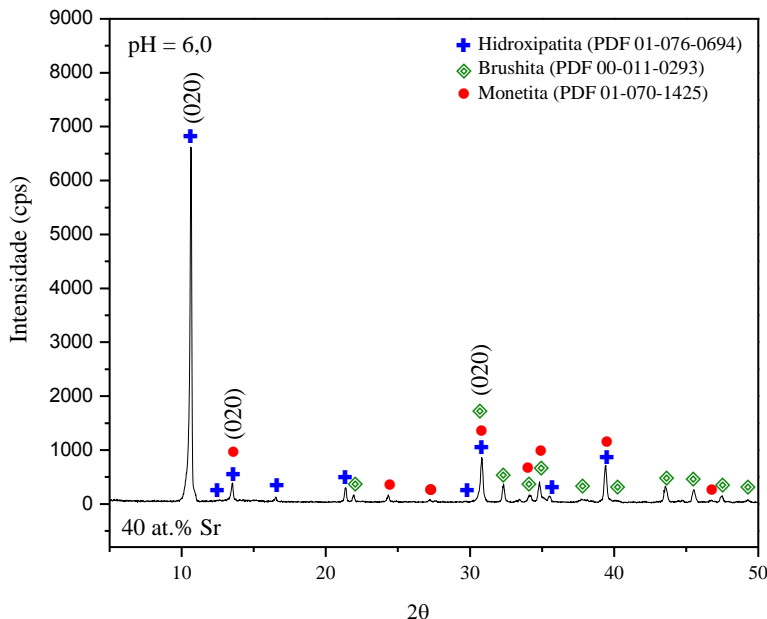


Figura 60: Difratoograma de amostra com solução de partida com 40 at.% Sr em pH=6. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-011-0293), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclinica (PDF 01-076-0694).

Na síntese com solução de partida com 40 at.% Sr em pH=6, visualizam-se na Figura 60, três fases cristalográficas de fosfatos de cálcio, são elas: brushita (DCPD), monetita (DCPA) e hidroxiapatita monoclinica (HAP -  $P2_1/c$ ). Entre estas, as fases de fosfatos de cálcio ditas ácidas como DCPD e DCPA são termodinamicamente menos estáveis sob pH com valores maiores que 6-7 porque não alcançam equilíbrio químico em decorrência da diferente dissolução em meio aquoso e sofrem transformação para fases de fosfatos de cálcio mais estáveis em pH elevado, segundo Sadat-Shojai Khorasani *et al.*, (2013). Um esquema de possíveis transformações e rotas destas fases é apresentado na figura 13.



Como é importante produzir diferentes fosfatos de cálcio de acordo com sua aplicação e uma das características que se observa na escolha do biomaterial é a solubilidade, deve-se conhecer quais são os menos e os mais solúveis. Na literatura é constatado que existe relação entre a solubilidade e a energia interfacial ou de superfícies na cristalização de materiais e no caso dos fosfatos de cálcio.

Nesse trabalho observou-se a sequência de formação listada entre brushita, monetita e hidroxiapatita, porém seria necessário um estudo aprofundado para avaliar a influência das energias interfaciais. Vê-se a formação da morfologia pseudo-hexagonal, como exposto nas imagens das Figura 61 e Figura 62 e ocorre incorporação de aproximadamente 18 at.% de Sr nos cristais com esta morfologia. Enquanto que na mesma amostra, nos cristais com morfologia em pétalas, há inserção de aproximadamente ~7 at.% de Sr. Então, há relação da quantidade de Sr que faz parte de cada cristal e isto impacta no hábito cristalino desenvolvido. Esta influência está relacionada à energia interfacial entre o sólido e o meio aquoso e os íons Sr que devem agir na desidratação do material, passando para formação da monetita e alcançando estabilidade estrutural pseudo-hexagonal com aparecimento da fase hidroxiapatita monoclinica sem elevação do pH.

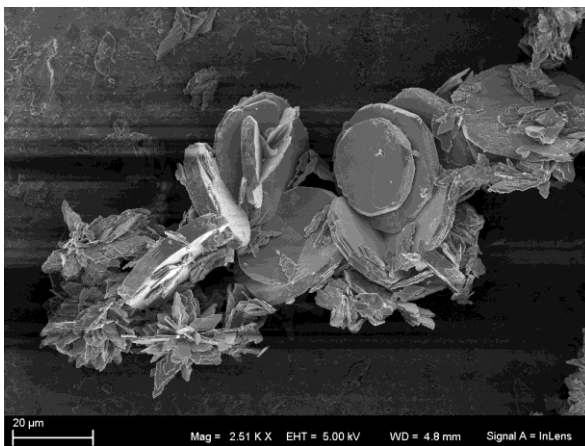


Figura 61: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% em pH=6, com visualização de formação de cristal com hábito pseudo-hexagonal lamelar quando da inserção de ~18 at.% Sr no sólido formado e com hábito cristalino em pétalas, como na amostra anterior, com inserção de ~7 at.% Sr nos cristais obtidas dentro da rede de cada cristais, formando diferentes hábitos cristalinos.

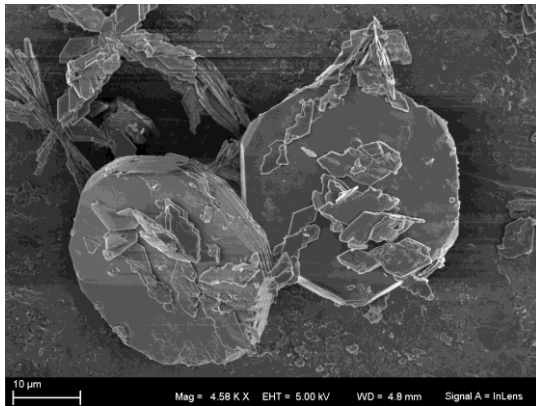


Figura 62: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% em pH=6, com visualização de formação de cristal com hábito pseudo-hexagonal lamelar quando da inserção de ~18 at.% Sr dentro da rede deste cristal e formando este hábito cristalino.

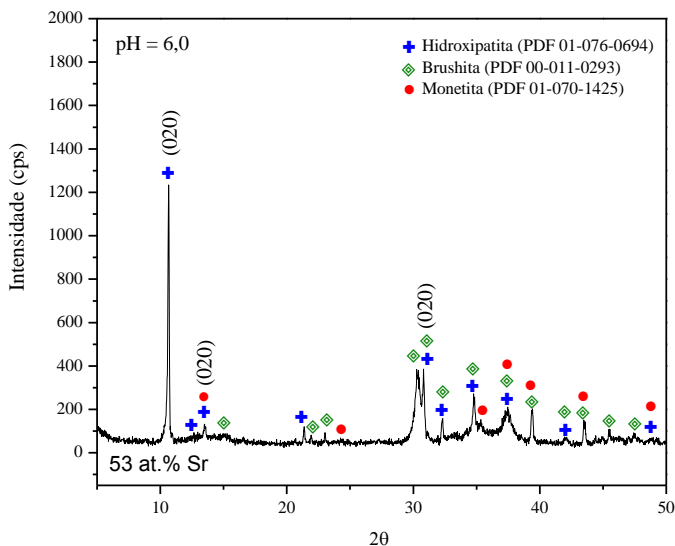


Figura 63: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% Sr em pH=6. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclinica (PDF 01-076-0694).

Na síntese com 40 at.% Sr em pH=6, visualizam-se, na Figura 63, três fases cristalográficas de fosfatos de cálcio, são elas: brushita (DCPD), monetita (DCPA) e hidroxiapatita monoclinica (HAP -  $P2_1/c$ ). Nas imagens da Figura 64, a síntese com solução de partida com 53 at.% em solução e pH=6 e com inclusão de ~28 at.% Sr nos cristais formados, visualizam-se cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal em estágio avançado de formação e altamente simétricos. Segundo Sadat-Shojai, Khorasani *et al.* (2013), “Formas como esta, em terceira dimensão, só são obtidas a partir de microcubos e microfibras se diminuir o pH para 4 e com fases dominantes de brushita, monetita e octacálcio”

Recentemente, pesquisadores sintetizaram cristais de  $\beta$ -TCP hexagonal por precipitação, porém com a ação de etileno glicol como solvente (GALEA, BOHNER *et al.*, 2013; TAO, JIANG *et al.*, 2008; TAO, PAN *et al.*, 2009). Estes são os únicos trabalhos científicos encontrados na literatura com relatos de síntese de fosfatos de cálcio com hábito cristalino pseudo-hexagonal. Todavia, vê-se em sua microestrutura defeitos e vacâncias, com deficiências na superfície dos cristais.

O fenômeno de dissolução implica que a borda da parede e parte do *bulk* podem ter diferentes propriedades físico-químicas. Através das covas que podem fornecer sítios ativos que iniciam a dissolução e que têm orientação preferencial ao longo do eixo-c, penetrando nas placas. Do mesmo modo que as camadas são empacotadas no sentido do eixo-c e apresentam a mesma estrutura de rede cristalina. Vê-se na figura 59, as placas se organizando na síntese com 19 at.% em pH=6,0 e na Figura 62 com os hexágonos, apresentam o arranjo destas camadas internamente com orientação preferencial ao longo do eixo-c do cristal e visualmente apresentam um cristal anisotrópico, deve-se no futuro analisar que tipos de funcionalidade são influenciadas por esta anisotropia.

Em relato dos autores Tao, Jiang *et al.* (2008), foi percebido que esta textura ordenada confirma que a estrutura do cristal formou-se na parte do *bulk* do cristal e as seis bordas mantêm-se intactas. Isto pode ser explicado usando modelo termodinâmico de crescimento/dissolução de diferentes substratos de cristais em função da forma da face do cristal e o ângulo de contato da unidade e o substrato. Na síntese efetuada por estes autores, acredita-se que o etileno glicol teve papel fundamental na cristalização do material para a formação das placas hexagonais e na sua escala nanométrica, através do aumento dos íons de cálcio e fósforo livres na solução aquosa. Não utilizamos deste tipo de solvente e obteve-

se a formação de cristais com hábito pseudohexagonal com alta simetria, sem defeitos e vacâncias em sua microestrutura.

Na Figura 64, observamos em fase inicial de formação dos hexágonos, vacâncias no desenvolvimento da microestrutura. Porém, com o tempo de maturação, formou-se arranjo mais homogêneo da superfície planar do material.

Na Figura 65, temos diferentes estágios da cristalização dos hexágonos, através dos cálculos de simetria e arestas destes cristais, tem-se o prolongamento do crescimento das arestas entre os dois cristais vistos na Figura 66 bem correlacionados. As morfologias vistas nas imagens são fases de brushita e monetita em excesso que não fazem parte do cristal pseudohexagonal.

Além disto, na Figura 67, visualizam-se os ângulos de simetria apresentados durante sua cristalização visando os estágios entre estas duas formas dos cristais com hábito cristalino pseudohexagonal durante o crescimento do cristal.

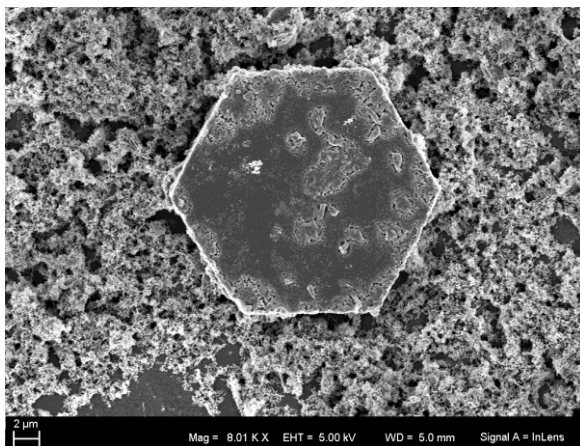


Figura 64: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6. Visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudohexagonal com inserção de ~28 at.% Sr dentro da rede deste cristal.

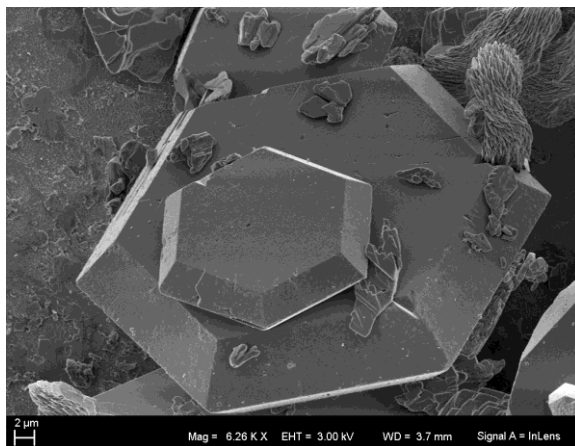


Figura 65: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6. Visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal com inserção de ~28 at.% Sr dentro da rede destes cristais.

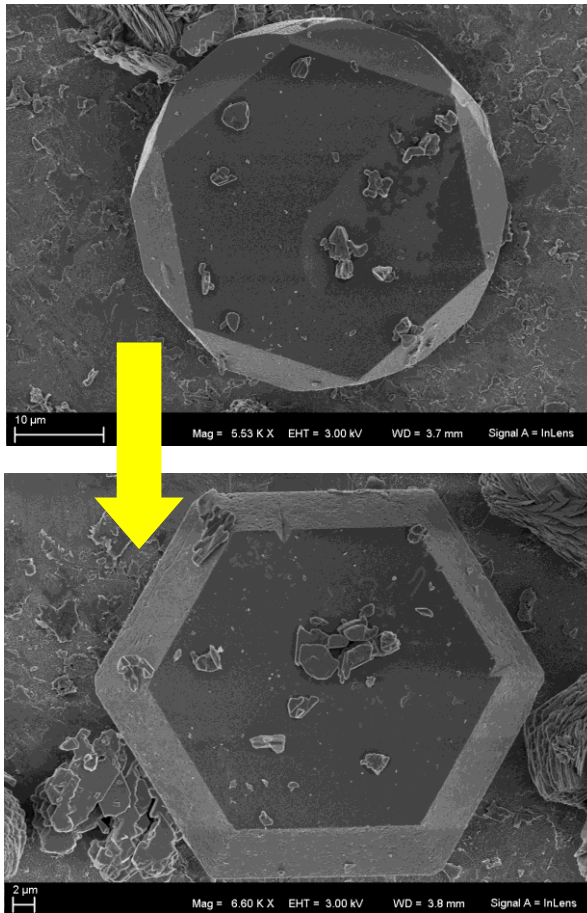


Figura 66: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6 com inserção de ~28 at.% Sr nos cristais com hábito pseudo-hexagonal. Visualização de formação de cristais com morfologia hexagonal, com duas formas visivelmente subsequentes de crescimento do cristal.

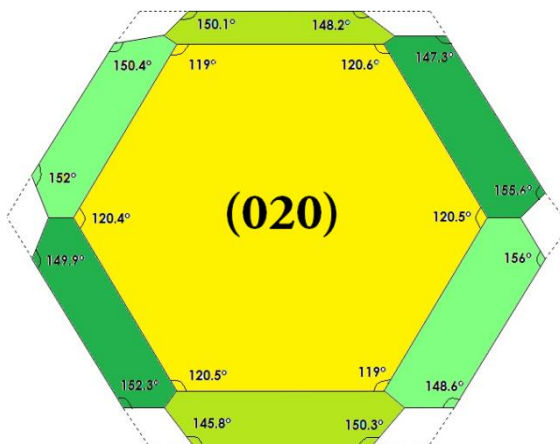


Figura 67: Desenho representativo dos ângulos e simetrias em amostra de cristal com hábito pseudo-hexagonal de síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=6 e inserção de ~28 at.% Sr, o prolongamento das arestas do cristal visto na primeira imagem da Figura 66, como representado no pontilhado acima, enfim formando o cristal na segunda imagem do esquema da Figura 66.

Na estrutura destes cristais, a barreira de dissolução da borda côncava (ângulo de 120°), como visto na Figura 67, é sempre maior que no *bulk*. Ao lado da própria parede, os sítios em volta das bordas da parede do cristal com hábito pseudo-hexagonal são mais difíceis de serem dissolvidos por causa de maior equilíbrio energético de suas ligações e, portanto mais difícil de a parede ser quebrada. Todavia, em determinadas amostras dos experimentos aqui relatados, foram obtidos cristais com cristalização homogênea. Interessante notar que este hábito cristalino surge quando da presença da fase HAP, o que não é comum em pH ácido e também conjuntamente quando da substituição iônica elevada de Sr nos cristais. Estes fatores influenciaram na transformação para a fase da hidroxiapatita.

Foram apresentadas amostras nesta tese, quando do hábito cristalino pseudo-hexagonal três fases cristalinas, a HAP e a DCPD de sistema monoclinicos e a DCP triclinica. Por conseguinte, encontra-se nas formas com hábito cristalino pseudo-hexagonal quando da presença da hidroxiapatita (HAP) monoclinica, antes de seu aparecimento, os hábitos foram bem correlacionados com da literatura quando há apenas a fase monoclinica da brushita e a triclinica da monetita. Através das análises de DRX, viu-se o aparecimento de picos característicos da HAP

do sistema monoclinico em  $10,8^\circ$  referente ao plano (010), o que determina e influencia desta fase para formação dos cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal.

Portanto, a organização dos grupos OH na estrutura da HAP do sistema monoclinico é determinante para a formação do hábito cristalino pseudo-hexagonal. Comprovada por simulações feitas pelos autores Aquilano, Bruno *et al.* (2014) e feita experimentalmente em amostras desta tese, observa-se que o comportamento do grupo OH é influenciado pela ação dos íons de estrôncio na desidratação e consequente formação e estabilização da estrutura com hábito pseudo-hexagonal e o sistema presente e dominante monoclinico.

O crescimento do cristal no plano (010) é encontrado através da orientação preferencial representada nas amostras com solução de partida com 40 at.% e 53 at.% Sr na síntese pelos picos correlatos (020), (040) no ângulo de  $10,8^\circ$  e  $21,8^\circ$ , respectivamente, correspondentes da HAP do sistema monoclinico (ICDD-PDF 01-076-0694). Há maior espalhamento no plano (020), por exemplo, quando da maior inserção de  $\text{Sr}^{2+}$  nos sítios de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Como os cristais formados não são monocristais, pois não apresentam uma fase única, mas apresentam fase com orientação preferencial ordenada e outras fases presentes, mesmo assim uma alta organização do cristal é ocasionada por agregação orientada dos cristais que compõem o grão micrométrico muito organizado espacialmente. A agregação orientada é um mecanismo de crescimento de cristais não convencional e que vem recebendo atenção no meio científico nos últimos 15 anos. Ele envolve uma reorganização e auto-organização primária de nanocristais, reorganização cristalográfica e conversão orientada de agregados. Estes agregados orientados frequentemente têm morfologias com simetria definida e podem exibir uma estrutura hierárquica altamente organizada, segundo Yuwono, Burrows *et al.* (2010).

O cristal com hábito pseudo-hexagonal formado, por não apresentar fase única e apresentar uma ordenação hierárquica simétrica, mesmo que haja uma orientação preferencial em uma das fases cristalográficas presentes, pode ser definido como um mesocristal, o que ainda será definido com exatidão com a continuação da contribuição desta tese para trabalhos futuros.

Estudos de geminação da aragonita (carbonato de cálcio) nas camadas de nácar da concha de abalone mostram o crescimento dos cristais de aragonita pseudo-hexagonais em torno dos planos (001), (110) e (010) e em camadas (MUKAI, SARUWATARI *et al.*, 2010), como



visto na Figura 40. É o mesmo tipo de geminação vista com o hábito cristalino pseudohexagonal nesta tese, portanto é um forte indício de correlação da síntese desenvolvida neste trabalho e a biomineralização do cristal encontrado no material desta concha, exemplificando assim um caso de biomimetismo. Correlação esta comentada por Aquilano *et al.* (2015) do hábito cristalino pseudohexagonal e o sistema monoclinico do cristal como encontrado no nácar desta concha e o efetuado experimentalmente nesta tese.

A supersaturação do Sr desempenha um papel determinante, tanto no polimorfismo como na geminação da apatita. Segundo Aquilano *et al.* (2015), “é razoável supor que a fase inicial de nucleação seja caracterizada pelo nível de supersaturação que diminui progressivamente até o cristal parar de crescer”. Isto explica as múltiplas geminações do polimorfo monoclinico nucleado, como visto nas imagens na Figura 68, influenciadas pelos íons estrôncio e as consequências provocadas na nucleação de fase monoclinica, ordenação dos cristais no hábito pseudohexagonal homoganeamente crescidos.

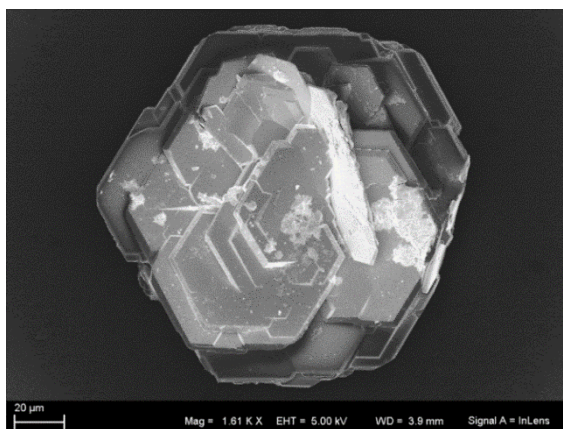


Figura 68: Geminação em camadas de HAP de sistema monoclinico por crescimento em espiral do tipo empilhamento de moedas, em camadas presentes nos cristais crescidos nas sínteses dos experimentos desta tese.

Valida-se assim, através de exemplos da literatura, a possibilidade da formação morfológica pseudohexagonal através de sistemas cristalinos monoclinicos como os presentes nas amostras desta tese e vistos nos materiais da natureza com sistema monoclinico e hábito cristalino pseudohexagonal.

## 6.2 Amostras sintetizadas em pH=7,0

Além das composições apresentadas no pH=6,0, suas fases, estruturas cristalinas e suas respectivas morfologias, um dos objetivos do presente trabalho é, através de pH mais ácido, formar nanoestruturas. Estruturas estas que foram encontradas tanto em pH 7 deste capítulo como no subsequente em pH=8.

Na figura 69 observam-se os difratogramas das amostras sintetizadas em pH=7,0 com aparecimento de HAP, HAP-Sr, HAP do sistema monoclinico, brushita e monetita. Na Tabela 8 e figura 70 veem-se os resultados de quantificação nas amostras com at.% Sr usado nas soluções de partida da síntese e a relação resultante de Ca/P ou Ca+Sr/P, at.% de Ca e Sr nos cristais das amostras (sólidos formados) após síntese. Na amostra sem adição de Sr em pH=7 chega-se a uma relação Ca/P quase da ideal teórica para a hidroxiapatita que é de 1,67. Por isto, no caso de produção de HAP pura com estrutura próxima da ideal para o osso, a síntese a pH mais próximo do neutro é o ideal.

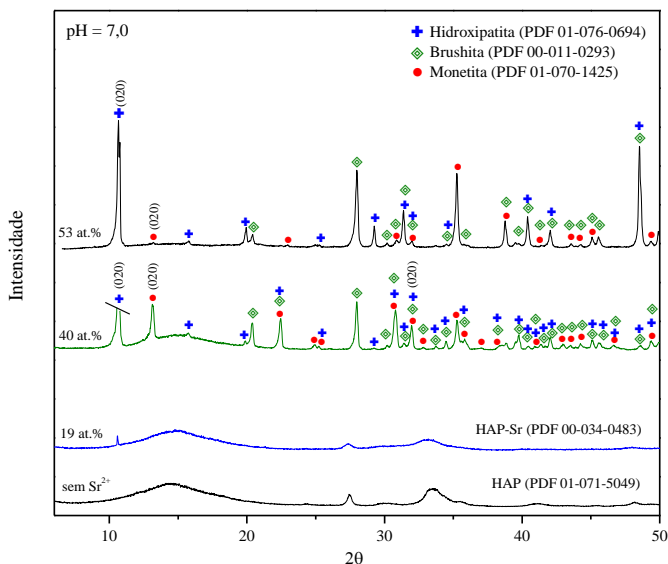


Figura 69: Difrátogramas de amostras sintetizadas em pH=7 com fases cristalográficas hidroxiapatita - HAP ( $P6_3/m$ ) pura (PDF 01-071-5049) e HAP-Sr (PDF 00-034-0483), brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

Quando do uso de soluções de partida com 19 at.% Sr na síntese, há a inclusão de ~11 at.% Sr nos sólidos formados, inserção maior que a encontrada em pH=6,0. O aumento também ocorre para as outras amostras em pH=7,0, com solução de partida com 40 at.% Sr na síntese com inclusão de ~29 at.% Sr no sólido formado e com solução de partida com 53 at.% Sr na síntese a inclusão de ~29 at.% Sr no sólido formado, como visto na Tabela 8.

Tabela 8: Quantificação de at.% de  $\text{Sr}^{2+}$  usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Sr}^{2+}$  em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em pH = 7.

at.% na síntese	Ca/P ou Ca+Sr/P	Ca (at.%)	Sr (at.%)	P (at.%)
Sr 0%	1,66±0,02	62,38±0,22	---	37,62±0,24
Sr 19%	1,54±0,02	49,35±0,18	11,26±0,06	39,39±0,26
Sr 40%	1,68±0,03	34,14±0,20	28,62±0,08	37,24±0,23
Sr 53%	1,35±0,02	28,96±0,11	28,54±0,11	42,50±0,28

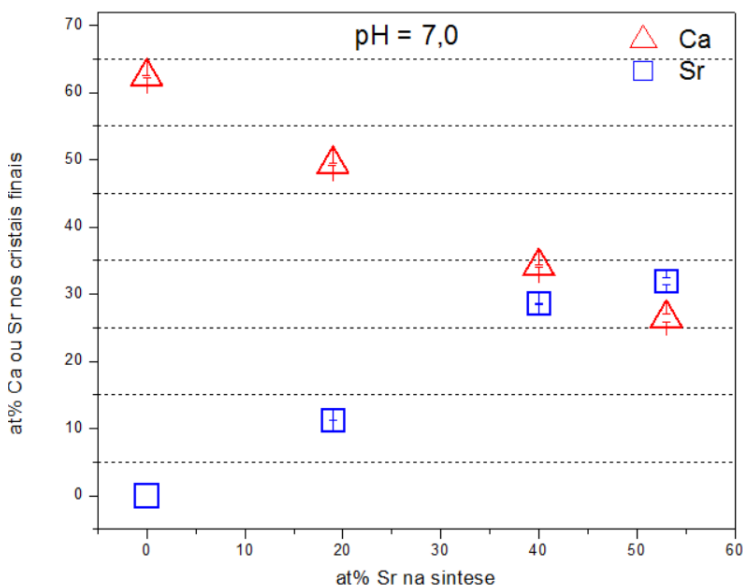


Figura 70: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em pH=7. Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados.

Uma importante característica dos fosfatos de cálcio e que também delimitam suas fases é sua solubilidade. Característica esta que depende da quantidade de íons cálcio e fósforo presentes no sólido. Eles influenciarão como se comportará suas ligações no meio (ácido, neutro e básico) e interações com os grupos hidroxilas. Estas ligações determinam o grau de degradação do material e, por conseguinte seu comportamento quando implantado no corpo.

Com isto, a HAP é a fase mais estável a pH neutro e percebe-se que a HAP formada apresenta uma baixa cristalinidade e isto já era esperado, pois a amostra não foi calcinada para passar pelo processo de aceleração de cristalização do material.

Também era esperado obter esta fase cristalográfica nos parâmetros de síntese em pH = 7,0, principalmente neste pH, pois ocorre uma inclusão maior de íons cálcio neste meio que resultou em uma relação Ca/P=1,66 muito próxima da já conhecida ideal teórica para a fase HAP de 1,67. Na Figura 71, visualiza-se o difratograma da fase cristalográfica hidroxiapatita (HAP) do sistema pseudo-hexagonal quando efetuada a síntese sem adição de estrôncio em pH=7.

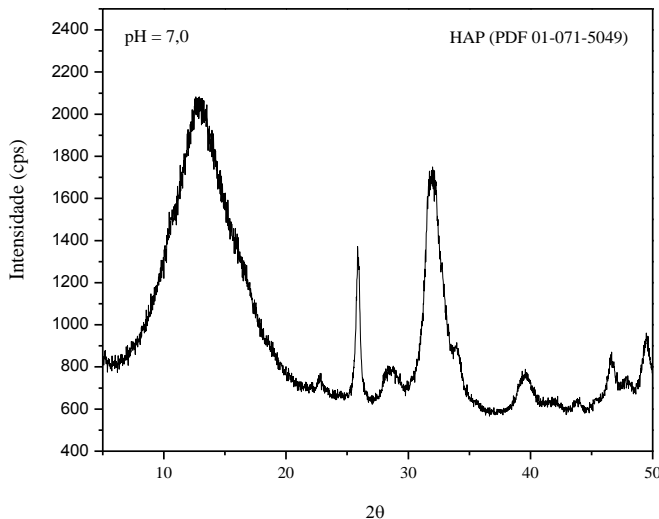


Figura 71: Difratograma da amostra sem adição de estrôncio (Sr) em pH=7. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita - HAP ( $P6_3/m$ ) (PDF 01-071-5049).

Nas imagens da Figura 72, visualiza-se o material gerado da síntese sem estrôncio (Sr) em pH=7,0. Não há uma morfologia definida, pois se efetuou pouco tempo de maturação. O material apresenta fosfato de cálcio amorfo (FCA) que tem uma relação Ca/P próximo da HAP, de acordo com a variação de 1,0 a 2,2. Como também esta organização, vista nas imagens, é típica da hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA) que pode ocorrer na formação inicial dos fosfatos de cálcio os materiais CDHA ou DCPD (DOROZHKIN, 2010a).

A estrutura apresentada nas imagens da Figura 72 é também relacionada ao FCA do modelo de *Posner's clusters*, como também a visualização da curva no difratograma da Figura 71, é característico do FCA e desaparece à medida que a amostra sofre cristalização nas fases de fosfatos de cálcio brushita primeiramente. Este comportamento é evidenciado na síntese desta tese em pH=6,0, onde se vê a fase DCPD.

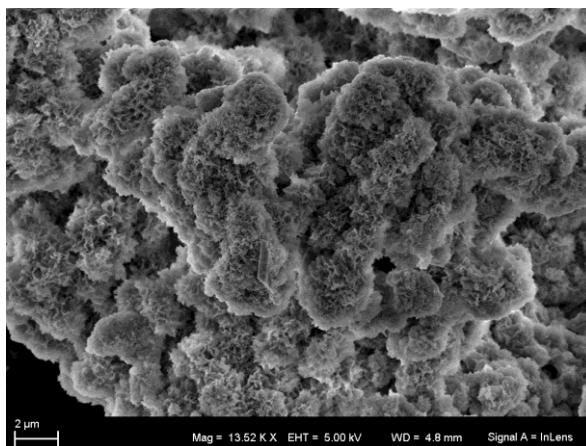


Figura 72: Imagens de MEV da amostra da síntese sem adição de estrôncio (Sr) em pH=7, com visualização de fase tipicamente pouco cristalizada de hidroxiapatita - HAP do sistema hexagonal.

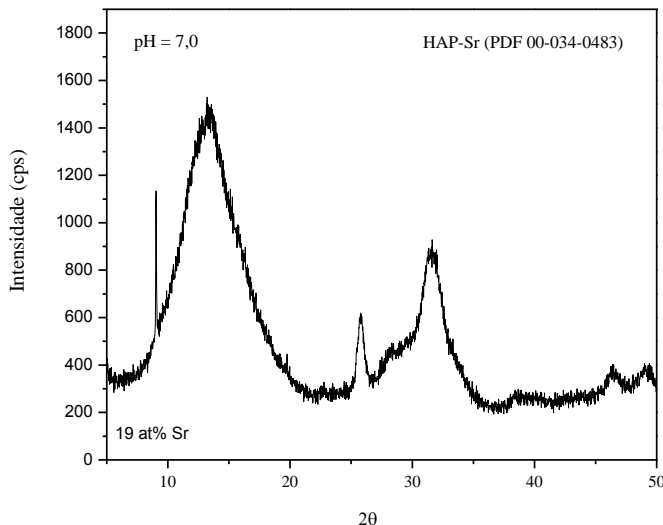


Figura 73: Difractograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% Sr em pH=7 e inserção de ~11 at.% Sr na amostra final. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr do sistema hexagonal (PDF 00-034-0483).

Na Figura 73, o difratograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% Sr em pH=7,0 evidencia o aparecimento da fase HAP-Sr do sistema hexagonal (PDF 00-034-0483) com maior grau de amorfo da amostra sem Sr. É relatado em trabalhos de Renaudin, Jallot *et al.* (2009) e Renaudin, Laquerriere *et al.* (2008), que fase amorfa com estrôncio é encontrada conjuntamente com a fase HAP no ambiente natural, pode ser benéfica para aplicações antiosteoporose e apresenta efeitos anti-inflamatórios, pois ocasiona um material mais solúvel com liberação de Sr no meio e beneficia este tratamento. Pode-se também, segundo Mohan, Shenoy *et al.* (2013), ser usado na confecção de arcabouços para reparação e regeneração de tecidos ósseos e guiada radiograficamente, pois o estrôncio (Sr) desempenha função osteoestimulante com relevante radiopacidade.

Como visto nas imagens da Figura 74, formou-se nesta amostra o material de fosfato de cálcio amorfo (FCA) e fase HAP-Sr, mesmo comportamento ocorrido sem Sr. É um material semi-amorfo, porém

com morfologia em nanobastonetes presentes devido a fase HAP-Sr com baixa cristalinidade provocada pela inserção de Sr na rede cristalina da HAP. A diminuição de cristalinidade de cristais de apatita óssea é ocorre com a substituição de íons cálcio (Ca) pelo estrôncio (Sr), em estudos *in vitro* e não havendo significância *in vivo* (AINA, BERGANDI *et al.*, 2013; AINA, LUSVARDI *et al.*, 2012; DOUBLIR, FARLAY *et al.*, 2013).

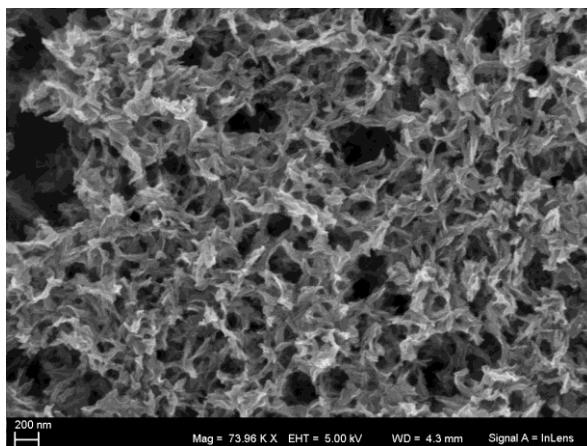


Figura 74: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em pH=7 e inserção de ~11 at.% Sr na amostra final (sólido formado), com visualização de fase tipicamente amorfa de hidroxiapatita com estrôncio HAP-Sr do sistema hexagonal.

Na síntese em pH=7 com solução de partida com 40 at.% Sr em solução e inserção de ~29 at.% Sr no sólido formado, visualizados na Figura 75, três fases cristalográficas de fosfatos de cálcio estão presentes, são elas: brushita (DCPD), monetita (DCPA) e hidroxiapatita (HAP) monoclínica.

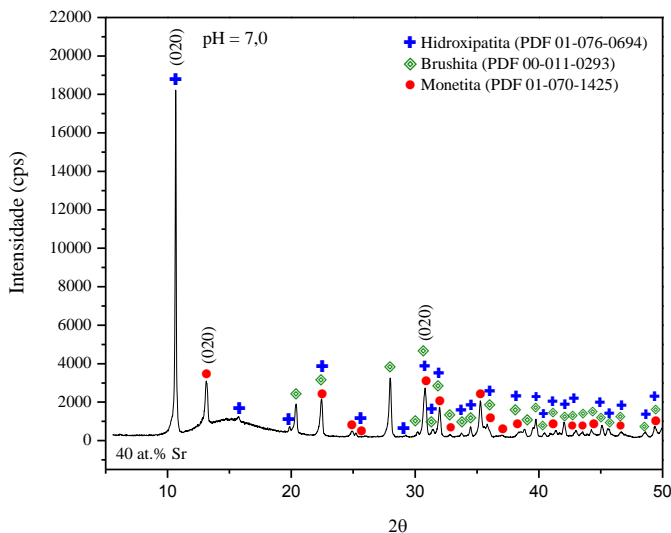


Figura 75: Difratoograma da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% e inclusão de ~29 at.% Sr em pH = 7 com brushita - DCPD (PDF 01-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP (P21/c) monoclínico (PDF 01-076-0694).

Lundager Madsen *et al.* (2008) afirmam que a influência de íons estrôncio (Sr) como aditivo ocasiona o surgimento de composições de fases OCP e HAP. Como também, reduz efeitos de taxa de nucleação, redução de nucleação de agregados e atua como inibidor de hidrólise e formação da brushita. A inibição de crescimento de cristal é ocasionada pela adsorção de inibidor e muito provavelmente inibe a nucleação e previne seu desenvolvimento. Por sua vez, a promoção envolve apenas o estágio de nucleação facilitando a formação de compostos mais solúveis que os formados sem inclusão deste íon.

No difratograma na figura 76, visualiza-se as fases brushita - DCPD (PDF 01-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP (P21/c) monoclínico (PDF 01-076-0694).



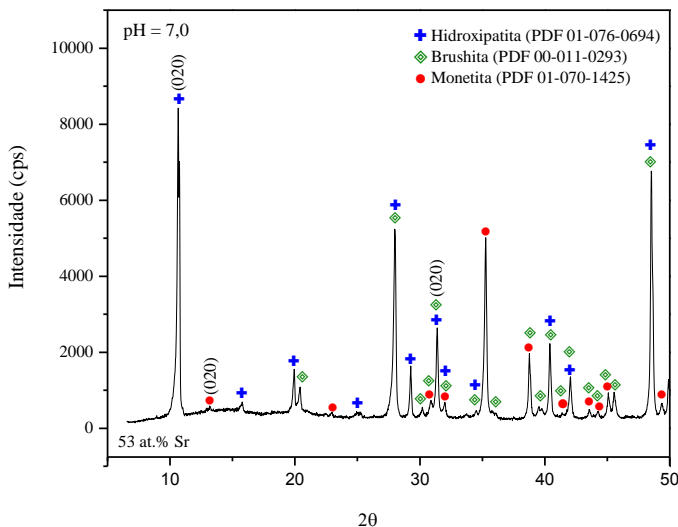


Figura 76: Difratoograma da amostra da síntese com 53 at.% em pH=7 com brushita - DCPD (PDF 01-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita - HAP monoclinico ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

Nas imagens da Figura 77, Figura 78 e Figura 79, visualizam-se estruturas que tendem ao hábito cristalino pseudo-hexagonal da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH = 6,0. Porém, vê-se que a formação dos hexágonos não ocorre de forma homogênea como os formados em pH = 6,0. Isto ocorre porque quando se eleva o pH, há maior atratividade de inclusão de íons Ca do que Sr. Desta forma, vê-se cristais hexagonais com defeitos, pois o equilíbrio entre íons de Ca e Sr propiciam melhor equilíbrio estrutural. Há também crescimento do cristal em maior desordem, com a visualização de falta de orientação preferencial como ocorre em pH = 6,0 a partir da inclusão de ~19 at.% a ~30 at.% Sr nos cristais do sólido formado, como visualizado nas tabelas de variação de at.%. O aparecimento de hábito cristalino pseudo-hexagonal ocorre a partir de ~30% dos sítios ocupados por substituição iônica de Ca nas amostras controles por Sr e a formação simétrica perfeita quando da ocupação de ~50% de sítios de Ca ocupados por Sr com valores no cristal de ~30 at.% dos sítios ocupados

por Ca e ~30 at.% dos sítios ocupados por Sr visto nos resultados da tabela de EDS.

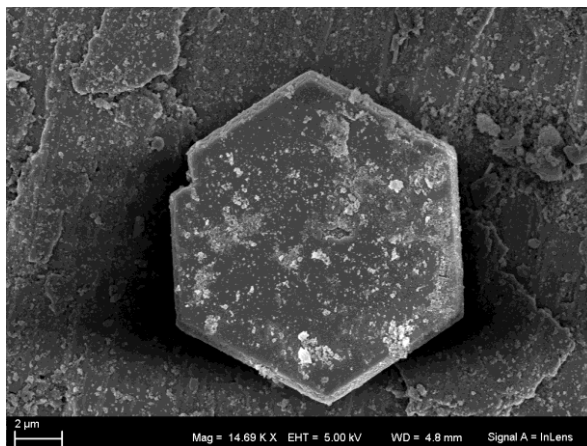


Figura 77: Imagem de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 40 at.% Sr em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação de cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal.

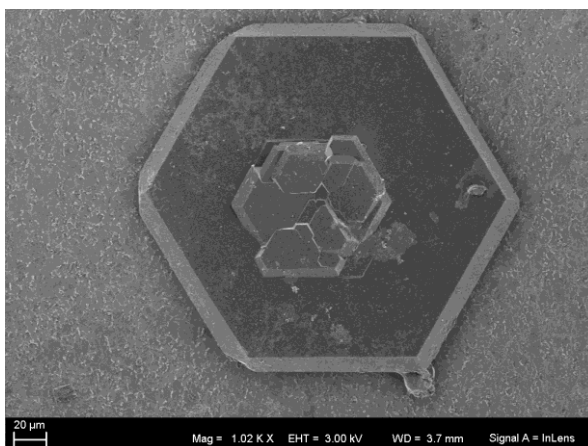


Figura 78: Imagem de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação do hábito cristalino pseudo-hexagonal.

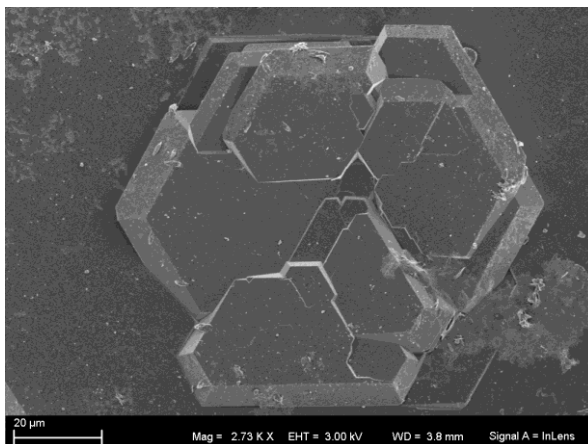


Figura 79: Ampliação da imagem de MEV da Figura 78, da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em pH=7 e inserção de ~29 at.% Sr no cristal (sólido formado), com visualização de formação do hábito cristalino pseudo-hexagonal.

Nas imagens da Figura 80, tem-se nanoesferas de hidroxiapatita-Sr (HAP-Sr). Esta amostra não sofreu secagem em estufa a 60 °C. O alto valor do pH resulta em um crescimento isotrópico ou fracamente anisotrópico ocasionando crescimento de cristalitos em forma de partículas nanoesféricas ou nanobastões. Quando do uso de materiais desta família com atuação mais bioativas, é necessário um material menos cristalino. Portanto, uma estratégia para isto é a diminuição de temperatura de calcinação ou sinterização, como também é possível simplesmente secar o material a baixa temperatura ou em temperatura ambiente.

Por outro lado, a diminuição do valor do pH em suspensão provoca um crescimento anisotrópico que são oriundos de cristalitos que crescem de nanobastões em uma dimensão ou nanofolhas em duas dimensões, segundo Sadat-Shojai, Khorasani *et al.* (2013). A morfologia de nanoesferulitas com o uso de inclusão de íons Sr em apatita biológica pode ser usada para o tratamento da osteoporose, também com a informação de diminuição da cristalinidade, e esta morfologia é pH dependente. Neste caso foi usado o pH = 12,5 pelos autores e não influenciando à formação da HAP (PAN, LI *et al.*, 2009). Na amostra feita nesta tese, a diferença é a alta concentração de íons Sr, por isto as ações de equilíbrio iônico são diferentes em pH=12.5 e pH=7,0.

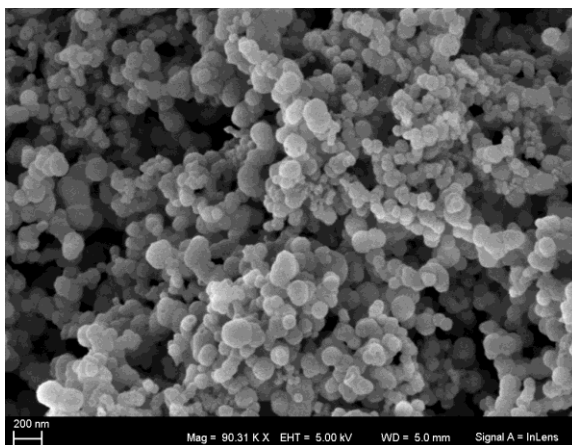


Figura 80: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 53 at.% em  $\text{pH}=7$  e inserção de  $\sim 29$  at.% Sr na nanoesfera (sólido formado), não secadas, com visualização de formação de nanoesferas de HAP.

Portanto, vê-se que neste  $\text{pH}$  foram desenvolvidos processo de obtenção de materiais com cristais nanométrico com hábito cristalino eferulítico, bastonetes e esferas além das já definidas em  $\text{pH}$  6.

### 6.3 Amostras sintetizadas em $\text{pH}=8,0$

Após os resultados em meio ácido e neutro, procedeu-se o estágio final de avaliar os resultados em meio básico. Os resultados subsequentes em  $\text{pH}=8,0$  praticamente validaram os comportamentos ocorridos em  $\text{pH}=8,0$  e acrescentou conhecimento para as transformações ocorridas nestas variações no  $\text{pH}$  durante a síntese, complementando-os.

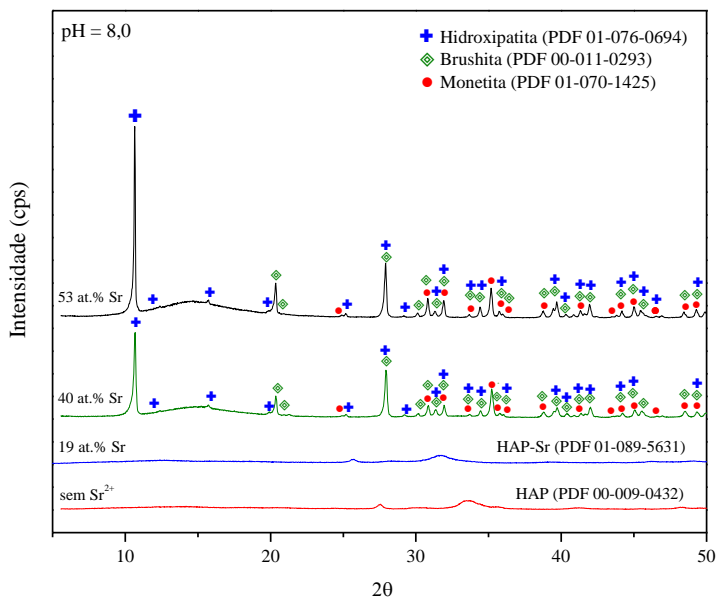


Figura 81: Difratomogramas de amostras sintetizadas em pH=8 com fases cristalográficas hidroxiapatita - HAP - ( $P6_3/m$ ) (PDF 00-009-0432), hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr- ( $P6_3/m$ ) (PDF 01-089-5631), brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e hidroxiapatita-HAP monoclinica ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

Na Figura 81 observam-se os difratogramas das amostras sintetizadas em pH=8,0 com aparecimento das fases cristalográficas HAP - ( $P6_3/m$ ), HAP-Sr- ( $P6_3/m$ ), DCPD, DCPA e HAP monoclinica ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694). O comportamento das amostras em pH=8,0 foi similar em pH=7,0. Formam-se nanoesferas de HAP-Sr com solução de partida com 19 at.% Sr na solução da síntese e inserção de ~13 at.% Sr nas nanoesferas (sólido formado), como visualizado na Tabela 9. Entretanto, as nanoesferas em pH=7,0 ocorreram nas amostras com inserção de ~28 at.% Sr no sólido formado. A diferença foi que em pH=7,0 necessitou maior saturação de Sr na síntese para obter o mesmo resultado. Então, quando do objetivo de se produzir nanoesferas com inserção de íons Sr, o pH=8 requer menos matéria-prima para o mesmo resultado.

Assim como em pH=8 formaram-se morfologias tabulares e hábito pseudo-hexagonal. Todavia, o hábito cristalino pseudo-hexagonal, não foi tão homogêneo como em pH=6,0 e pH=7,0. Como visto nos

gráficos de relação de inclusões de íons Ca e Sr nas amostras obtidas, quanto maior o pH, há maior relação Ca/P ou Ca+Sr/P por causa da maior atração à inserção de íons Ca na estrutura. Na Tabela 9 e figura 82 vê-se os resultados das relações Ca/P ou Ca+Sr/P e as quantificações de at.% Ca e Sr na solução de partida em função da quantificação de Sr nos sólidos formados.

Tabela 9: Quantificação de at.% de  $\text{Sr}^{2+}$  usado na solução de partida na síntese por precipitação química e relações Ca/P, Ca+Sr/P e de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Sr}^{2+}$  em at.% encontrados nas amostras (sólidos) formados em pH=8.

at.% na síntese	Ca/P ou Ca+Sr/P	Ca (at.%)	Sr (at.%)	P (at.%)
Sr 0%	1,85±0,02	64,92±0,24	---	35,08±0,23
Sr 19%	1,76±0,02	50,26±0,23	13,51±0,08	36,22±0,25
Sr 40%	1,75±0,02	35,99±0,19	27,64±0,12	36,37±0,25
Sr 53%	1,76±0,03	30,01±0,20	33,77±0,15	36,22±0,26

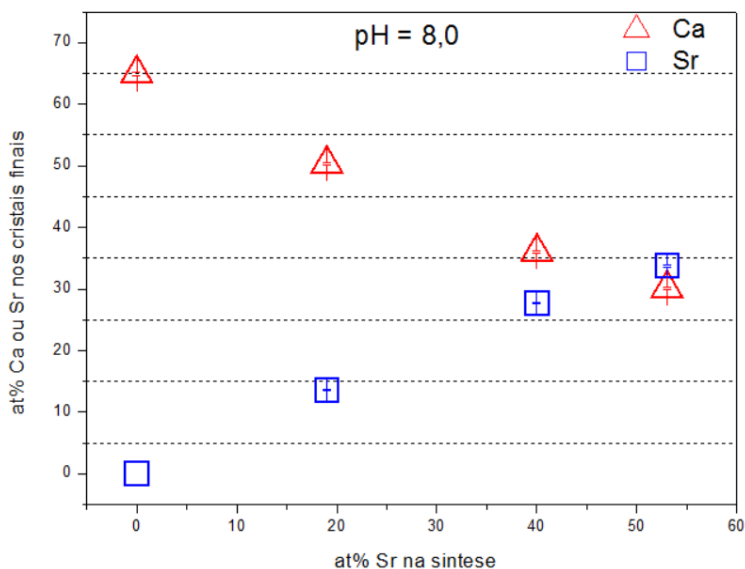


Figura 82: Representação de comportamento de substituições iônicas nas amostras em pH=8. Resultados de EDS de amostras obtidas com relação de at.% de Sr na solução de partida e at.% de Ca e Sr nos sólidos formados.

O comportamento da quantidade de íons de cálcio e inserção de íons estrôncio nas amostras obtidas no pH=8,0 foram similares ao das obtidas em pH=7,0. Porém, analisando as relações Ca/P e Ca+Sr/P vê-se que em pH=8,0 elas foram maiores. Uma questão a ser levantada é com relação aos grupos fosfatos, se estes são também afetados, visto que todas as outras quantificações não sofreram tamanha variação para afetar as relações Ca/P e Ca+Sr/P. Na Figura 83 visualiza-se a fase HAP encontrada na amostra sem adição de Sr e imagens de MEV da mesma amostra na Figura 84 com formação de material de baixa cristalinidade e grau elevado de amorfo como o FCA visualizado em pH = 7,0. Além disto, vê-se que houve a formação de nanofolhas de HAP pura.

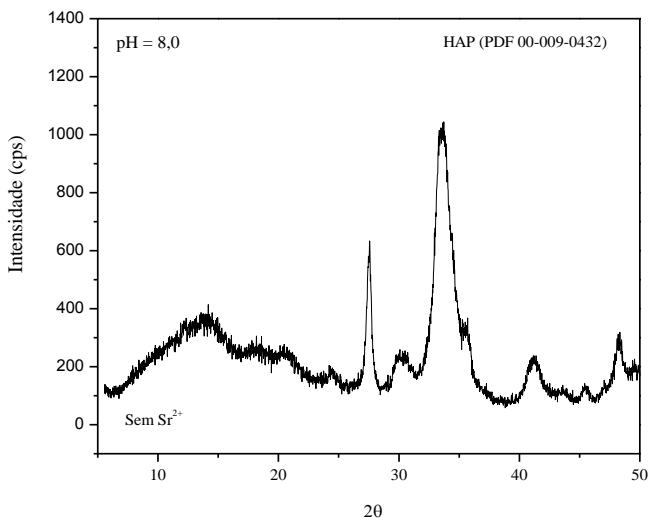


Figura 83: Difratoograma da amostra sem estrôncio (Sr) em pH=8. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita - HAP (P63/m) do sistema hexagonal (PDF 00-009-0432).

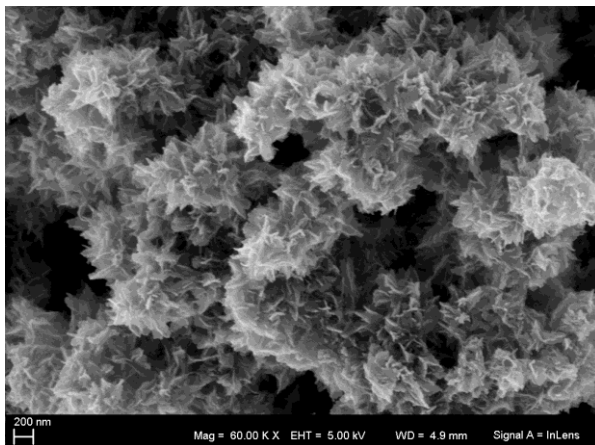


Figura 84: Imagens de MEV da amostra sem adição de estrôncio (Sr) em pH=8, com visualização de fase tipicamente pouco cristalizada de hidroxiapatita - HAP do sistema hexagonal.

A influência do pH na formação dos fosfatos de cálcio apresenta uma relação direta com as propriedades dos grupos fosfatos contidos nas soluções. Devido ao equilíbrio triprótico do sistema, que é o equilíbrio iônico em solução relacionado à quantidade de íons hidrogênio ( $H^+$ ) ionizáveis, as variações no pH alteram as concentrações relativas de formas protônicas nos ácidos fosfóricos.

A imagem de MEV da Figura 84 é muito similar à da Figura 72, ambas sem adição de Sr, diferenciando apenas no tamanho da estrutura, validando nestes parâmetros a aparecimento da fase FCA e nanofolhas de HAP que é um precipitado com ocorrência espontânea a alta supersaturação e pH. Ele é altamente hidratado e em experimentos feitos em pH=10 mostrou-se a formação de HAP pobremente cristalina, o que é visto também nas amostras no pH mais alto dos experimentos desta tese.

Na amostra com soluções com solução de partida com 19 at.% Sr, neste meio básico, houve inserção de ~13 at.% Sr nos sólidos formados, mas vê-se a mesma formação de HAP-Sr, do sistema hexagonal, como visto em pH mais baixo. Conquanto, analisando as relações Ca/P neste pH, não se pode afirmar que há um excesso de cálcio com relação ao fósforo, pelos resultados aqui obtidos. A quantificação de Ca e Sr tem a relação próxima da solução de partida com ~50 at.% Ca e inserção de ~12 at.% Sr no sólido formado tanto em pH=7 quanto em pH=8 e em



compensação ocorreram relações diferentes de  $\text{Ca}+\text{Sr}/\text{P}=1,54$  em  $\text{pH}=7$  e  $\text{Ca}+\text{Sr}/\text{P}=1,76$  em  $\text{pH}=8$ . Neste caso, pelo que é estabelecido, dever-se-ia considerar a amostra em  $\text{pH}=7$  uma HAP deficiente em cálcio e em  $\text{pH}=8$  com excesso de cálcio. Mas a relação se altera pela variação de fósforo (fosfatos) e não do cálcio, elevando a relação  $\text{Ca}/\text{P}$ . Então, para se alcançar a validação de qual fase cristalográfica está presente, são necessários os resultados de DRX para sua comprovação e pode-se acarretar erros levando-se em consideração apenas a relação  $\text{Ca}/\text{P}$ .

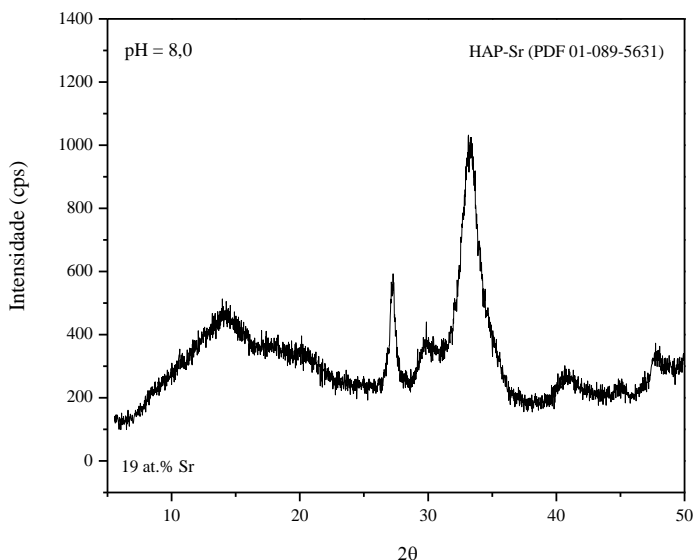


Figura 85: Difratograma da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em  $\text{pH}=8$  e inserção de  $\sim 13$  at.% Sr no sólido formado. Visualização da fase cristalográfica hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr ( $\text{P6}_3/\text{m}$ ) do sistema hexagonal (PDF 01-089-5631).

Na amostra em  $\text{pH}=8,0$  com solução de partida com 19 at.% Sr em solução da síntese e inserção de  $\sim 13$  at.% Sr no sólido formado, encontrou-se a fase cristalográfica hidroxiapatita com estrôncio - HAP-Sr ( $\text{P6}_3/\text{m}$ ) do sistema hexagonal (PDF 01-089-5631), como visto na Figura 85 e a formação das nanoesferas de fosfatos de cálcio, Figura 86, o que tinha ocorrido em  $\text{pH}=7,0$ , mas com solução de partida com 53 at.% Sr em solução e inserção de  $\sim 29$  at.% Sr no sólido. O melhor resultado em obtenção das nanoesferas pode ser considerado o que

ocorreu em pH=8,0, pois levando em consideração o gasto de matéria-prima de nitrato de estrôncio, há economia em pH=8,0. Todavia, dependendo da necessidade de ações relacionadas ao tipo de aplicação do biomaterial, escolhe-se um ou outro.

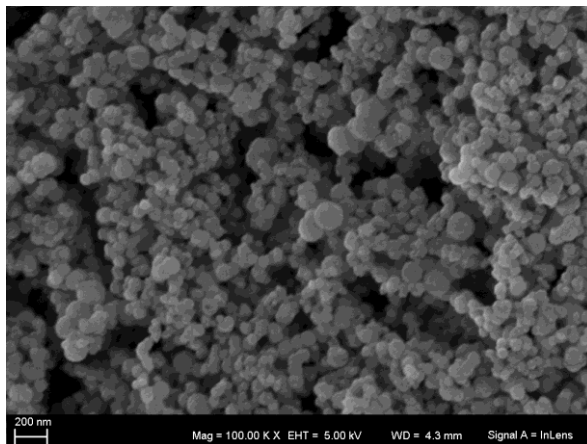


Figura 86: Imagens de MEV da amostra da síntese com solução de partida com 19 at.% em pH=8 e inserção de ~13 at.% Sr nas nanoesferas. Visualização de nanoesferas de fosfatos de cálcio HAP-Sr ( $P6_3/m$ ) de sistema hexagonal.

No futuro deve-se proceder a estudos com relação aos efeitos *in vitro* e *in vivo* destas diferentes amostras e escolher o que for o mais adequado de acordo com a aplicação. Estas amostras de HAP-Sr de sistema hexagonal são avanços no domínio na produção de hidroxiapatita dopada com Sr que poderá ser usada em tratamentos de osteoporose, por exemplo. Porquanto o Sr tem mostrado atuar positivamente no metabolismo ósseo, estimulando a formação óssea e inibindo a reabsorção óssea. Age no mecanismo relacionado à diminuição da expressão gênica dos osteoblastos na atividade da fosfatase nas células mesenquimais, mas também inibindo a diferenciação osteoclástica através da inibição do RANKL, como visto na figura 43.

Em todos os pH's avaliados houve formações de hábitos cristalinos pseudohexagonais, porém com diferentes composições de íons Sr e sempre acima de 40 at.% de Sr usado em solução na síntese e as fases cristalográficas presentes nestes cristais foram as mesmas. Na Figura 87 observa-se o difratograma da amostra sintetizadas em pH=8,0

da solução de síntese com 40 at.% de Sr. Analisando as imagens de MEV destes cristais na Figura 88 e em comparação ao que vê-se em pH=6,0 ele aparenta maior instabilidade estrutural. Tal fato é similar ao resultado obtido em pH=7,0, visto através das imagens de MEV, com a existência defeitos de discordâncias como visto na Figura 78 e Figura 79. Enquanto que em pH=8,0 são vistos defeitos superficiais com deslocamento e separação das maclas do material.

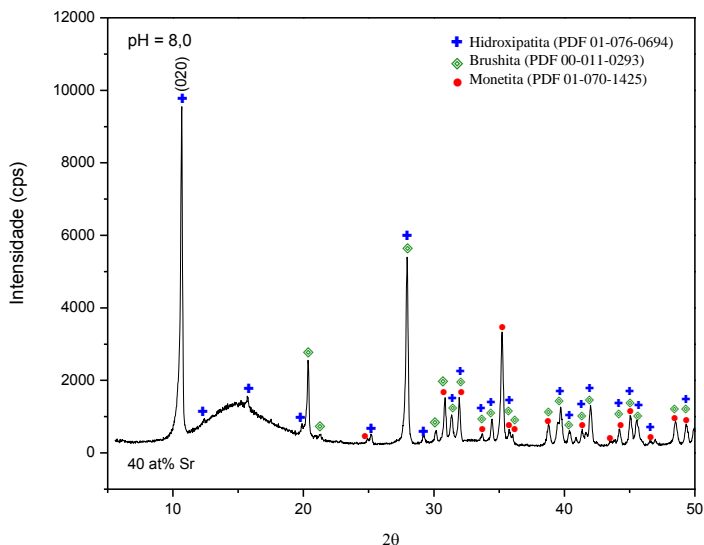


Figura 87: Difratoograma da amostra da síntese com 40 at.% em pH=8. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e HAP de sistema monoclinico ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

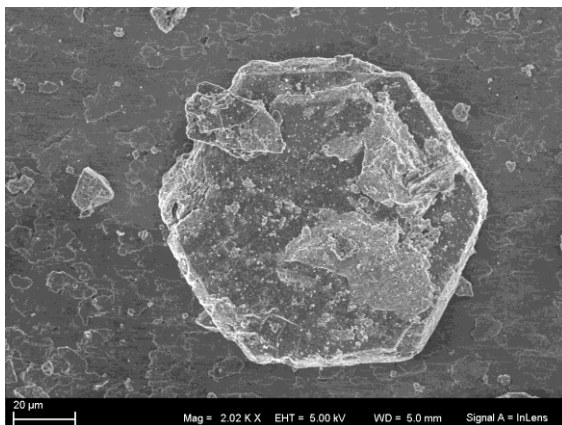


Figura 88: Imagens de MEV da amostra da síntese com 40 at.% em pH=8 e inserção de ~27 at.% Sr com hábito cristalino pseudo-hexagonal.

Com relação às fases cristalográficas, as mesmas foram presentes em todos os pHs e influenciaram a formação do hábito cristalino pseudo-hexagonal conjuntamente com os íons de estrôncio. Através da análise dos tipos de transformações que ocorrem na biomineralização e biomimetização apresentadas nos resultados desta tese, ocorre a formação primeiramente de fosfato de cálcio amorfo (FCA) e a partir dele a sequência descrita na figura 13. Decerto pode-se afirmar que, baseado em conceito enunciado por outros autores como Furuichi, Oaki *et al.* (2006) e Colfen e Antonietti (2008), o material de partida DCDP se transforma por desidratação da brushita (DCPD) em monetita e, após rápida hidratação, forma a HAP monoclínica com orientação preferencial no plano (010) que é um subconjunto do plano (020), representação na Figura 23. Com o difratograma da amostra com solução de partido com 53 at.% Sr na figura 86 e imagem de cristal com hábito cristalino pseudo-hexagonal nesta amostra na figura 87.

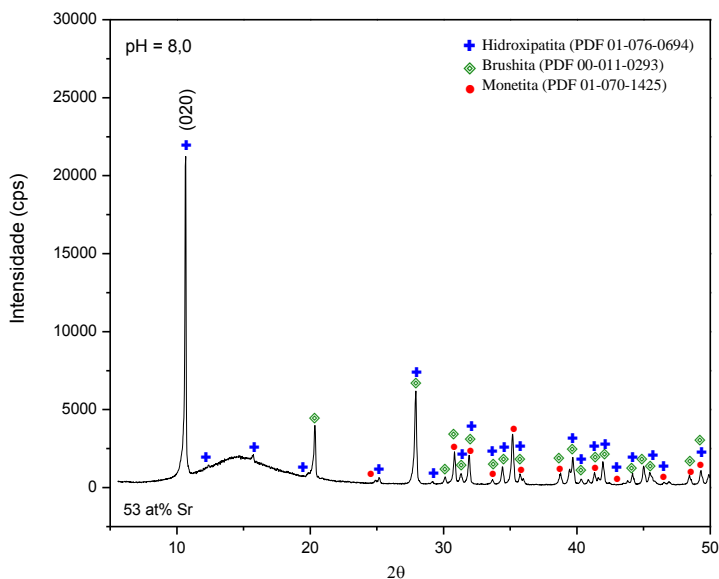


Figura 89: Difratoograma da amostra da solução de partida com 53 at.% em pH=8 e ~34 at.% Sr no sólido formado. Visualização das fases cristalográficas brushita - DCPD (PDF 00-009-0077), monetita - DCPA (PDF 01-070-1425) e HAP monoclinico ( $P2_1/c$ ) (PDF 01-076-0694).

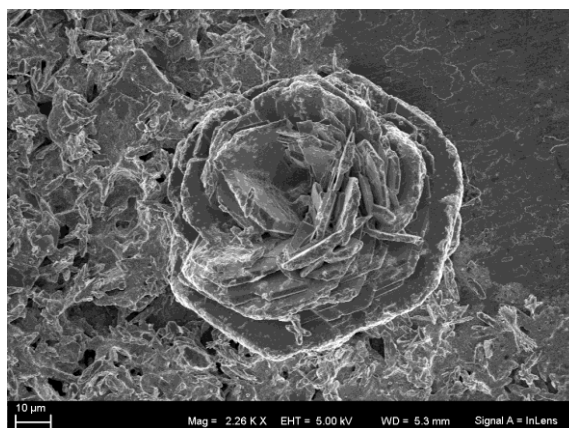


Figura 90: Imagens de MEV da amostra da solução de partida com 53 at.% e inserção de ~34 at.% Sr no sólido formado em pH=8 com camadas de hábito cristalino pseudo-hexagonal se desprendendo.

Os autores Helmut Colfen *et al.* (2008) enumeram a reação tipo topotática entre o DCPD, DCP e HAP monoclinico como um exemplo para formação de mesocristais, através do processo demonstrado na Figura 23. A diferença das sínteses efetuadas nesta tese é que normalmente autores defendem que a formação dos mesocristais somente é possível com algum aditivo, principalmente orgânico. Contudo, no trabalho aqui defendido, o procedimento adotado não fez incorporação de aditivos orgânicos, além dos íons de estrôncio. Ademais, foi supersaturado o estrôncio em solução e efetuada a síntese em pH ácido.

O elemento iônico estrôncio atua no equilíbrio da forma monoclinica da HAP, especificamente na projeção (020) subconjunto da (010) comentado na literatura. Outrossim, a formação do cristal depende da geminação dos planos e desta orientação preferencial e dos íons Sr que ocupam ~50% dos sítios de cálcio na célula unitária, com o propósito de ordenar os OH para a forma polimorfa monoclinica. Na Figura 27 vemos a representação da célula unitária da HAP, a partir dela visualizamos na Figura 91 a replicação e translação da mesma formando o hábito cristalino pseudo-hexagonal. Propõem-se ainda, que a partir deste modelo, há a inserção de íons Sr em 50% dos sítios de cálcio que estabilizam a estrutura em torno da coluna de OH ordenando-os para a estrutura monoclinica da HAP, como representado na Figura 91. A partir desta célula base, replicando-a sucessivamente através de crescimento cristalográfico em camadas até a formação final do cristal micrométrico com hábito cristalino pseudo-hexagonal altamente simétrico, como visto na Figura 92.

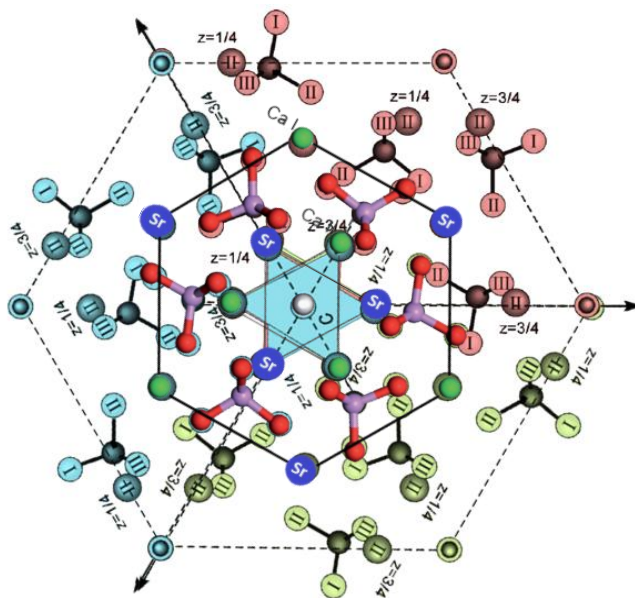


Figura 91: Representação de arranjo replicado e transladado da célula base de HAP com inclusão de íons Sr em 50% dos sítios de cálcio em torno da coluna ordenada de OH.

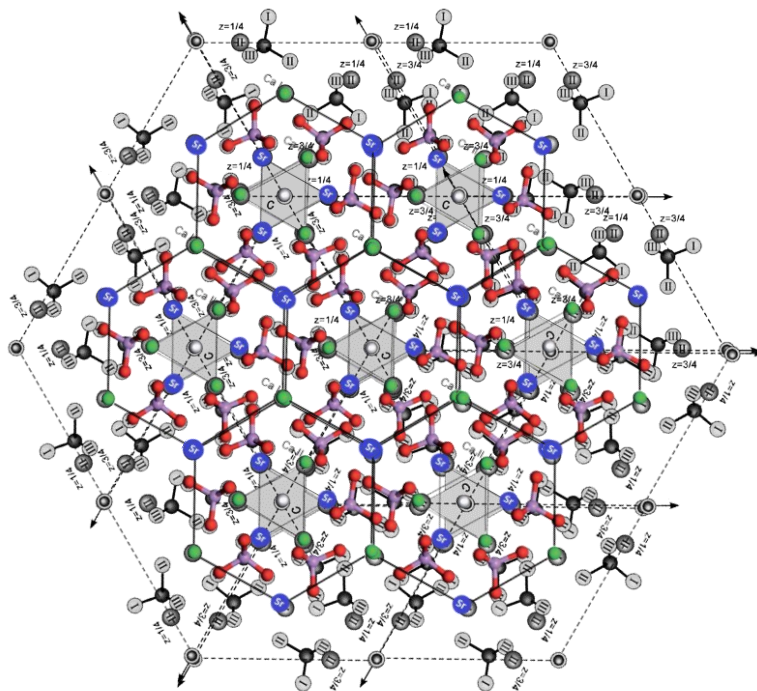


Figura 92: Replicação do arranjo representado na Figura 91 que ocorre sucessivamente no crescimento do cristal com hábito pseudo-hexagonal a nível atômico desde sua nucleação até o cristal final micrométrico porquanto replicações sejam necessárias até o cristal final estabilizado.

Comparativamente, o hábito cristalino hexagonal desenvolvido nesta tese é similar ao do mineral estrôncio-apatita e estrôncio-fluor-apatita estudada por geólogos encontrados em rochas ígneas, como também dos cristais de aragonita presentes na estrutura hierárquica do nácar da concha de abalone muito visada na biomimetização de seu arcabouço pela alta propriedade mecânica, o que acarreta no desenvolvimento de melhores biomateriais sintéticos. Dito isto, a aquisição do processo de cristais com hábito pseudo-hexagonal pode resultar em um biomaterial, no futuro, com propriedades mecânicas superiores comparativamente ao da concha de abalone e o osso.



## 7 CONCLUSÕES

- Pelas análises de DRX foram encontradas as fases cristalográficas e sistemas cristalinos: brushita (DCPD) monoclinico (Cc), monetita (DCP) triclinico (P-1), hidroxiapatita (HAP) monoclinico ( $P2_1/c$ ) e hexagonal ( $P6_3/m$ ).
- Percebeu-se que a fase formada depende da concentração de  $Sr^{2+}$  na amostra final e da influência do pH nas substituições iônicas entre o  $Sr^{2+}$  e o  $Ca^{2+}$ , o que resultou em diferentes hábitos cristalinos (placas ou tabular, pétalas ou estrela e pseudo-hexagonal) de acordo com a quantidade de  $Sr^{2+}$  incorporado aos sítios de  $Ca^{2+}$  no biomaterial.
- Através da relação iônica Ca+Sr/P demonstra-se que ela decresce em todas as amostras em comparação à relação Ca/P da amostra padrão em quase todos os pH's, excetuando com 40 at.% Sr na síntese em pH=6,0 e 7,0. Apresentando diferentes hábitos cristalinos (tabular, pétalas e pseudo-hexagonal).
- Em pH 7 e 8, sem adição de  $Sr^{2+}$ , apresentam a fase HAP ( $P6_3/m$ ) do sistema de cristalização hexagonal pura ou dopada com inclusão de ~11 a ~14 at.% Sr com grãos disformes e relações iônicas de ~1,54 a ~1,76, dentre estas há morfologia de nanoesferas em pH=7,0 com inclusão de 28 at.% Sr e relação iônica 1,68 e em pH=8,0 com inclusão de ~14 at.% e relação iônica ~1,76 a morfologia de nanofolhas.
- Em todas as faixas de pH com adição de  $Sr^{2+}$  de 40 e 53 at.% há hábitos cristalinos pseudo-hexagonais com alta simetria e nucleação avançada de fase polimórfica de HAP monoclinica ( $P2_1/c$ ) com inclusões de ~18 a ~34 at.% Sr e relação Ca+Sr/P de ~1,43 a ~1,76.
- Nas amostras com adições de  $Sr^{2+}$  a partir de 40 at.% até 53 at.% Sr apresenta estabilidade estrutural e simetria durante o crescimento do cristal, resultando na nucleação por sobreposição de camadas com orientação preferencial no plano (020), subconjunto do plano (010) da rede cristalina do sistema monoclinico, formando o hábito cristalino pseudo-hexagonal altamente regular e ocasionalmente biomimetizando cristais com hábito cristalino pseudo-hexagonal encontrados na natureza, como a aragonita do nácar da concha de abalone e minerais de sistemas monoclinicos como a hematita rosa e a moscovita.
- A forma do cristal com hábito cristalino pseudo-hexagonal, externamente disfarça o processo complexo do seu crescimento, em

que o sistema monoclinico é dominado desde a fase de nucleação, representado não como um monocristal, mas por uma fina textura de maclas através de pequenos domínios de crescimento dos cristais que são visualizados em pontos de simetria pseudo-hexagonais, com a fase inicial caracterizada por um crescimento excessivo de polimorfos monoclinicos geminados enquanto que na segunda fase, há a formação completa de mesocristal único com estrutura morfológica de hábito cristalino pseudo-hexagonal.

- Os resultados alcançados nesta tese permitem agora o controle no processo de manipulação atômica de  $\text{Sr}^{2+}$  em substituições nos sítios de  $\text{Ca}^{2+}$ , ocasionando estabilidade e homogeneidade estrutural dos cristais de sistema monoclinico.

## 8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Modelagem e simulação termodinâmica e de estrutura eletrônica para os diferentes pHs e concentrações de estrôncio para encontrar o seu equilíbrio iônico teórico e confrontar com os experimentais.
- Testes de bioatividade, biocompatibilidade, citotoxicidade e genotoxicidade das amostras para determinar suas ações e possíveis toxicidade de acordo com a concentração de Sr nos materiais.
- Caracterizações por microscópios eletrônicos de alta resolução (HRTEM), difração de elétrons (SAED), Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (NMR) e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) para determinação e catalogação completa de estruturas cristalográficas.
- Efetuar refinamento Rietveld para quantificar percentualmente as fases cristalográficas presentes nos cristais para determinar as mudanças de fases sequencialmente entre DCPD, DCP e HAP na formação dos cristais.
- Efetuar estudos de propriedades mecânicas, tanto das amostras cerâmicas, como também de biocompósito polímero-cerâmica para as diferentes morfologias.
- Calcular e determinar as estruturas eletrônicas e os mapas de densidades eletrônicas em volta dos sítios atômicos de Ca, Sr, P e O.

## 9 REFERÊNCIAS

ABBONA, F.; CHRISTENSSON, F.; ANGELA, M. F.; MADSEN, H. E. L. **Crystal Habit and Growth-Conditions of Brushite,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$** . Journal of Crystal Growth, v. 131, n. 3-4, p. 331-346, 1993. Disponível em: <doi:10.1016/0022-0248(93)90183-W>. Acesso em 03 mar. 2015.

AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SAERI, M. R.; SORRELL, C. C. **Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite**. Materials & Design, v. 24, n. 3, p. 197-202, 2003. Disponível em: <doi:10.1016/S0261-3069(03)00003-7>. Acesso em 03 mar. 2015.

AINA, V.; BERGANDI, L.; LUSVARDI, G.; MALAVASI, G.; IMRIE, F. E.; GIBSON, I. R.; CERRATO, G.; GHIGO, D. **Sr-containing hydroxyapatite: morphologies of HA crystals and bioactivity on osteoblast cells**. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, v. 33, n. 3, p. 1132-1142, 2013. Disponível em: <doi:10.1016/j.msec.2012.12.005>. Acesso em 03 mar. 2015.

AINA, V.; LUSVARDI, G.; ANNAZ, B.; GIBSON, I. R.; IMRIE, F. E.; MALAVASI, G.; MENABUE, L.; CERRATO, G.; MARTRA, G. **Magnesium- and strontium-co-substituted hydroxyapatite: the effects of doped-ions on the structure and chemico-physical properties**. Journal of Materials Science-Materials in Medicine, v. 23, n. 12, p. 2867-2879, 2012. Disponível em: <0.1007/s10856-012-4767-3>. Acesso em 03 mar. 2015.

ALKHRAISAT, M. H.; MOSEKE, C.; BLANCO, L.; BARRALET, J. E.; LOPEZ-CARBACOS, E.; GBURECK, U. **Strontium modified biocelements with zero order release kinetics**. Biomaterials, v. 29, n. 35, p. 4691-4697, 2008. Disponível em: <doi:10.1016/j.biomaterials.2008.08.026>. Acesso em 03 mar. 2015.

AMJAD, ZAHID. **Advances in crystal growth inhibition technologies**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000. x, 277 p. Disponível em: <<http://www.springer.com/us/book/9780306464997>>. Acesso em 04 mar. 2015.

AN, G. H.; WANG, H. J.; KIM, B. H.; JEONG, Y. G.; CHOA, Y. H. **Fabrication and characterization of a hydroxyapatite nanopowder by ultrasonic spray pyrolysis with salt-assisted decomposition**. Materials Science and Engineering: A, v. 449-451, p. 821-824, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.msea.2006.02.436](https://doi.org/10.1016/j.msea.2006.02.436)>. Acesso em 04 mar. 2015.

ANGULO PAREDES, YOLANDA DEL ROCIO. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPOSITIVOS FOSFORESCENTES BASEADOS EM COMPOSTOS ORGÂNICOS DE BAIXO PESO MOLECULAR**. DEPARTAMENTO DE FÍSICA, V. DOUTORADO, 2012. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://WWW2.DBD.PUC-RIO.BR/PERGAMUM/BIBLIOTECA/PHP/MOSTRATESES.PHP?OPEN=1&ARQT](http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/biblioteca/php/mostrateses.php?open=1&arqtESE=0721806_2012_INDICE.html)>. ACESSO EM 04 MAR. 2015.

AQUILANO, D.; BRUNO, M.; RUBBO, M.; PASTERO, L.; MASSARO, F. R. **Twin Laws and Energy in Monoclinic Hydroxyapatite, Ca-5(PO<sub>4</sub>)(3)(OH)**. Crystal Growth & Design, v. 15, n. 1, p. 411-418, 2015. Disponível em: <[doi: 10.1021/cg501490e](https://doi.org/10.1021/cg501490e)>. Acesso em 07 mar. 2015.

AQUILANO, DINO; BRUNO, MARCO; RUBBO, MARCO; MASSARO, FRANCESCO ROBERTO; PASTERO, LINDA. **Low Symmetry Polymorph of Hydroxyapatite. Theoretical Equilibrium Morphology of the Monoclinic Ca<sub>5</sub>(OH)(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>**. Crystal Growth & Design, v. 14, n. 6, p. 2846-2852, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/cg5001478>>. Acesso em 07 mar. 2015.

ARIFUZZAMAN, S. M.; ROHANI, S. **EXPERIMENTAL STUDY OF BRUSHITE PRECIPITATION**. JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH, v. 267, N. 3–4, p. 624–634, 2004. Disponível em: <doi:10.1016/j.jcrysgro.2004.04.024>. Acesso em 07 MAR. 2015.

BALLO, A. M.; XIA, W.; PALMQUIST, A.; LINDAHL, C.; EMANUELSSON, L.; LAUSMAA, J.; ENGQVIST, H.; THOMSEN, P. **Bone tissue reactions to biomimetic ion-substituted apatite surfaces on titanium implants**. Journal of the Royal Society Interface, v. 9, n. 72, p. 1615–1624, 2012. Disponível em: <doi:10.1098/rsif.2011.0808>. Acesso em 07 mar. 2015.

BARRÈRE F, VAN BLITTERSWIJK CA, DE GROOT K. **Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics**. Int J Nanomedicine, v. 1(3), p. 317–332, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2426803/?report=reader>>. Acesso em 07 mar. 2015.

BARRERE, F.; VAN BLITTERSWIJK, C. A.; DE GROOT, K. **Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics**. Int J Nanomedicine, v. 1, n. 3, p. 317–332, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17717972>>. Acesso em 08 mar. 2015.

BERGSTROM, LENNART; STURM, ELENA V.; SALAZAR-ALVAREZ, GERMAN; CÖLFEN, HELMUT. **Mesocrystals in Biominerals and Colloidal Arrays**. Accounts of Chemical Research, v. 48, n. 5, p. 1391–1402, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ar500440b>>. Acesso em 08 mar. 2015.

BEST, S. M.; PORTER, A. E.; THIAN, E. S.; HUANG, J. **Bioceramics: Past, present and for the future**. Journal of the European Ceramic Society, v. 28, n. 7, p. 1319–1327, 2008. Disponível em <doi:10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.001>. Acesso em: 08 mar. 2015.

BERZELIUS, J. **Ueber basiche phosphorsaure kalkerde.** Ann. Chem. Pharma. 1845, 53, 286-288.  
Disponível em <doi: 10.1002/jlac.18450530212>

BOANINI, E.; GAZZANO, M.; BIGI, A. **IONIC SUBSTITUTIONS IN CALCIUM PHOSPHATES SYNTHESIZED AT LOW TEMPERATURE.** ACTA BIOMATER, v. 6, N. 6, p. 1882-1894, 2010A. DISPONÍVEL EM:  
< doi:10.1016/j.actbio.2009.12.041 >. ACESSO EM 08 MAR. 2015.

BOANINI, E.; GAZZANO, M.; BIGI, A. **Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature.** Acta Biomaterialia, v. 6, n. 6, p. 1882-1894, 2010b. Disponível em:  
<doi:10.1016/j.actbio.2009.12.041>. Acesso em 08 mar. 2015.

BOSE, SUSMITA; FIELDING, GARY; TARAFDER, SOLAIMAN; BANDYOPADHYAY, AMIT. **Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics.** Trends Biotechnol, v. 31, n. 10, p. 594-605, 2013 Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.06.005>. Acesso em 10 abr. 2015.

BRUAND, E.; STOREY, C.; FOWLER, M. **Accessory mineral chemistry of high Ba–Sr granites from northern scotland: constraints on petrogenesis and records of whole-rock signature.** Journal of Petrology, v. 55, n. 8, p. 1619-1651, 2014. Disponível em: < doi:10.1093/petrology/egu037 >. Acesso em 10 mar. 2015.

CAO, LI-YUN; ZHANG, CHUAN-BO; HUANG, JIAN-FENG. **Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation.** Ceramics International, v. 31, n. 8, p. 1041-1044, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.ceramint.2004.11.002>. Acesso em 11 mar. 2015.

CARL, LINDAHL; WEI, XIA; JUKKA, LAUSMAA; HÅKAN, ENGQVIST. **Incorporation of active ions into calcium phosphate**

**coatings, their release behavior and mechanism.** Biomed Mater, v. 7, n. 4, p. 045018, 2012.

Disponível em: <doi: <http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/7/4/045018>>. Acesso em 12 mar. 2015.

CARL LINDAHL, WEI XIA, JUKKA LAUSMAA, PER BORCHARDT, HÅKAN ENGQVIST. **Strontium and silicon co-doped apatite coating: preparation and function as vehicles for ion delivery.** Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, v. 3, n. 3, p. 335-341, 2012. Disponível em: <doi: 10.4236/jbnnb.2012.33031>. Acesso em 12 mar. 2015.

CASTNER, D. G.; RATNER, B. D. **Biomedical surface science: FOUNDATIONS to frontiers.** Surface Science, v. 500, n. 1-3, p. 28-60, 2002. Disponível em: <doi:10.1016/S0039-6028(01)01587-4>. Acesso em 15 mar. 2015

CAZALBOU, SOPHIE; COMBES, CHRISTELE; EICHERT, DIANE; REY, CHRISTIAN. **Adaptative physico-chemistry of bio-related calcium phosphates.** Journal of Materials Chemistry, v. 14, n. 14, p. 2148-2153, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B401318B>>. Acesso em 20 abr. 2015.

CENGİZ, BURCU; GOKCE, YAVUZ; YILDIZ, NURAY; AKTAS, ZEKI; CALIMLI, AYLA. **Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 322, n. 1-3, p. 29-33, 2008. Disponível em: <doi:10.1016/j.colsurfa.2008.02.011>. Acesso em 19 mar. 2015.

CHEN, P. Y.; MCKITTRICK, J.; MEYERS, M. A. **Biological materials: Functional adaptations and bioinspired designs.** Progress in Materials Science, v. 57, n. 8, p. 1492-1704, 2012. Disponível em: <doi:10.1016/j.pmatsci.2012.03.001>. Acesso em 15 mar. 2015.



CHOW, L. C. **Next generation calcium phosphate-based biomaterials**. Dental Materials Journal, v. 28, n. 1, p. 1-10, 2009. Disponível em: < <http://doi.org/10.4012/dmj.28.1>>. Acesso em 26 mai. 2015.

CÖLFEN, HELMUT; ANTONIETTI, MARKUS. Mesocrystal Systems. In: (Ed.). **Mesocrystals and Nonclassical Crystallization**: John Wiley & Sons, Ltd, 2008. p.113-177. Disponível em: <[doi:10.1002/9780470994603](https://doi.org/10.1002/9780470994603)>. Acesso em 30 set. 2015.

COMBES, C.; REY, C. **AMORPHOUS CALCIUM PHOSPHATES: SYNTHESIS, PROPERTIES AND USES IN BIOMATERIALS**. ACTA BIOMATER, v. 6, N. 9, p. 3362-3378, 2010. DISPONÍVEL EM: < [doi: 10.1016/j.actbio.2010.02.017](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.017)>. Acesso em 17 mar. 2015.

CUDENNEC, YANNICK; LECERF, ANDRÉ. **THE TRANSFORMATION OF FERRIHYDRITE INTO GOETHITE OR HEMATITE, REVISITED**. JOURNAL OF SOLID STATE CHEMISTRY, v. 179, N. 3, p. 716-722, 2006. DISPONÍVEL EM: < [doi:10.1016/j.jssc.2005.11.030](https://doi.org/10.1016/j.jssc.2005.11.030)>. ACESSO EM: 20 MAR. 2015.

DE YOREO, JAMES J.; GILBERT, PUPA U. P. A.; SOMMERDIJK, NICO A. J. M.; PENN, R. LEE; WHITELAM, STEPHEN; JOESTER, DERK; ZHANG, HENGZHONG; RIMER, JEFFREY D.; NAVROTSKY, ALEXANDRA; BANFIELD, JILLIAN F.; WALLACE, ADAM F.; MICHEL, F. MARC; MELDRUM, FIONA C.; CÖLFEN, HELMUT; DOVE, PATRICIA M. **Crystallization by particle attachment in synthetic, biogenic, and geologic environments**. Science, v. 349, n. 6247, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/content/349/6247/aaa6760.abstract>>. Acesso em 14 abr. 2015.

DEDAVID, BERENICE ANINA. **Microscopia eletrônica de varredura - Aplicações e preparações de amostras - Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. PUC-RS: EPICURS, 2007a. Disponível em:

<<http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/handle/123456789/1447>>.  
Acesso em 14 abr. 2015

DEDAVID, BERENICE ANINA. **MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA: APLICAÇÕES E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS: MATERIAIS POLIMÉRICOS, METÁLICOS E SEMICONDUTORES**. 2007B.

DISPONÍVEL EM:

< <HTTP://WWW.PUCRS.BR/EDIPUCRS/ONLINE/MICROSCOPIA.PDF> >.

ACESSO EM 14 ABR. 2015

DOROZHKIN, S. V. **Amorphous calcium (ortho)phosphates**. Acta Biomater, v. 6, n. 12, p. 4457-4475, 2010a. Disponível em:  
<[doi:10.1016/j.actbio.2010.06.031](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.06.031)>. Acesso em 14 abr. 2015.

DOROZHKIN, S. V. **Bioceramics of calcium orthophosphates**. Biomaterials, v. 31, n. 7, p. 1465-1485, 2010b. Disponível em:  
<[doi:10.1016/j.biomaterials.2009.11.050](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050)>. Acesso em 15 abr. 2015.

DOROZHKIN, S. V. **Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates**. Acta Biomater, v. 8, n. 3, p. 963-977, 2012.  
Disponível em: <[doi:10.1016/j.actbio.2011.09.003](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.003)>. Acesso em 16 abr. 2015.

DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphate-based bioceramics**. Materials, v. 6, n. 9, p. 3840-3942, 2013a. Disponível em:  
<[doi:10.3390/ma6093840](https://doi.org/10.3390/ma6093840)>. Acesso em 15 abr. 2015.

DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphate cements for biomedical application**. Journal of Materials Science, v. 43, n. 9, p. 3028-3057, 2008. Disponível em: <[doi:10.1007/s10853-008-2527-z](https://doi.org/10.1007/s10853-008-2527-z)>.  
Acesso em 20 mar. 2015.

DOROZHUKIN, S. V. **Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine**. Materials, v. 2, n. 2, p. 399-498, 2009. Disponível em: <doi:10.3390/ma2020399>. Acesso em 20 mar. 2015.

DOROZHUKIN, S. V. **A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950**. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, v. 33, n. 6, p. 3085-3110, 2013b. Disponível em: <doi:10.1016/j.msec.2013.04.002>. Acesso em 30 abr. 2015.

DOROZHUKIN, S. V. **A hierarchical structure for apatite crystals**. Journal of Materials Science-Materials in Medicine, v. 18, n. 2, p. 363-366, 2007. Disponível em: <10.1007/s10856-006-0701-x >. Acesso em 30 mar. 2015.

DOROZHUKIN, SERGEY. **Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine**. Materials, v. 2, n. 2, p. 399, 2009. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1996-1944/2/2/399 >. Acesso em 30 mar. 2015.

DOUBLIER, A.; FARLAY, D.; JAURAND, X.; VERA, R.; BOIVIN, G. **Effects of strontium on the quality of bone apatite crystals: a paired biopsy study in postmenopausal osteoporotic women**. Osteoporosis International, v. 24, n. 3, p. 1079-1087, 2013. Disponível em: <doi: 10.1007/s00198-012-2181-9>. Acesso em 30 mar. 2015.

ELLIOT, J. C. **Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates**. Elsevier, 1994. Disponível em: <https://www.elsevier.com/books/structure-and-chemistry-of-the-apatites-and-other-calcium-orthophosphates/elliott/978-0-444-81582-8>. Acesso em 05 abr. 2015.

ELLIOTT, J. C.; MACKIE, P. E.; YOUNG, R. A. **Monoclinic Hydroxyapatite**. Science, v. 180, n. 4090, p. 1055-1057, 1973. Disponível em: <doi: 10.1126/science.180.4090.1055>. Acesso em 30 mar. 2015.

F.H., MOSTAFA; NASSER Y.; HASSAN; H.M.; MOHAMED;. **Sintering behavior and thermal stability of Na<sup>+</sup>, SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> co-substituted hydroxyapatites**. Journal of Alloys and Compounds, v. 479, n. 1-2, p. 692-698, 2009. Disponível em: <doi:10.1016/j.jallcom.2009.01.037>. Acesso em 30 mar. 2015.

FASS, LEONARD. **Imaging and cancer: A review**. Molecular Oncology, v. 2, n. 2, p. 115-152, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S157478910800059>. Acesso em 30 mar. 2015.

FATHI, M. H.; HANIFI, A. **Evaluation and characterization of nanostructure hydroxyapatite powder prepared by simple sol-gel method**. Materials Letters, v. 61, n. 18, p. 3978-3983, 2007. Disponível em: <doi:10.1016/j.matlet.2007.01.028>. Acesso em 01 abr. 2015.

FLEET, MICHAEL E.; LIU, XIAOYANG; KING, PENELOPE L. **Accommodation of the carbonate ion in apatite: An FTIR and X-ray structure study of crystals synthesized at 2–4 GPa**. American Mineralogist, v. 89, n. 10, p. 1422-1432, 2004. Disponível em: <doi: 10.2138/am-2004-1009>. Acesso em 30 mar. 2015.

FU, DAN-LI; JIANG, QIAO-HONG; HE, FU-MING; YANG, GUO-LI; LIU, LI. **Fluorescence microscopic analysis of bone osseointegration of strontium-substituted hydroxyapatite implants**. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, v. 13, n. 5, p. 364-371, 2012. Disponível em: <10.1631/jzus.B1100381>. Acesso em 27 mar. 2015.

FURUICHI, KOZUE; OAKI, YUYA; IMAI, HIROAKI. **Preparation of Nanotextured and Nanofibrous Hydroxyapatite through Dicalcium Phosphate with Gelatin**. Chemistry of Materials, v. 18, n. 1, p. 229-234, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/cm052213z>. Acesso em 28 abr. 2015.

GALEA, LAETITIA; BOHNER, MARC; THUERING, JUERG; DOEBELIN, NICOLA; ANEZIRIS, CHRISTOS G.; GRAULE, THOMAS. **Control of the size, shape and composition of highly uniform, non-agglomerated, sub-micrometer  $\beta$ -tricalcium phosphate and dicalcium phosphate platelets.** *Biomaterials*, v. 34, n. 27, p. 6388-6401, 2013. Disponível em: <doi:10.1016/j.biomaterials.2013.05.026>. Acesso em 01 mar. 2015.

GUO, GUANGSHENG; SUN, YUXIU; WANG, ZHIHUA; GUO, HONGYOU. **Preparation of hydroxyapatite nanoparticles by reverse microemulsion.** *Ceramics International*, v. 31, n. 6, p. 869-872, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.ceramint.2004.10.003>. Acesso em 23 mar. 2015.

HUANG, LIWEI; LIAO, QING; SHI, QIANG; FU, HONGBING; MA, JINSHI; YAO, JIANNIAN. **Rubrene micro-crystals from solution routes: their crystallography, morphology and optical properties.** *Journal of Materials Chemistry*, v. 20, n. 1, p. 159-166, 2010. Disponível em: <10.1039/B914334C>. Acesso em 25 mar. 2015.

JOSÉ DA SILVA RABELO NETO E MÁRIO ERNESTO GIROLDO Valério. **Produção e caracterização estrutural de nanopós de hidroxiapatita para aplicações biomédicas.** Relatório de iniciação científica ao CNPq, 2006.

KAHN, H. Apostila de Difração de Raios-X. In: (Ed.). **Disciplina PMI-2201-Técnicas de caracterização de materiais:** Engenharia de Minas. São Paulo: Escola Politécnica da USP, 2007.

KESTENBAC, H.J.; BOTA FILHO W.J. **Microscopia eletrônica transmissão e varredura.** São Paulo: ABM, 1994.

KLAUSS, PRISCILA. **Estudo de obtenção de imagens no microscópio eletrônico de varredura e espectros na microanálise por energia dispersiva.** p. 27, 2003. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105176>>. Acesso em 04 abr. 2015.

KNIEP, RÜDIGER; SIMON, PAUL; ROSSEEVA, ELENA. **Structural complexity of hexagonal prismatic crystal specimens of fluorapatite-gelatine nanocomposites: A case study in biomimetic crystal research**. *Crystal Research and Technology*, v. 49, n. 1, p. 4-13, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/crat.201300207>>. Acesso em 15 abr. 2015.

KÖNIGSBERGER, ERICH; KÖNIGSBERGER, LANCHI. **Solubility phenomena related to normal and pathological biomineralization processes**. In: (Ed.). **biomineralization – medical aspects of solubility**: John Wiley & Sons, Ltd, 2007. p.1-37. Disponível em <[doi:10.1002/0470092122](https://doi.org/10.1002/0470092122)>. Acesso em 15 abr. 2015.

KOUMOULIDIS, GEORGE C.; KATSOULIDIS, ALEXANDROS P.; LADAVOS, ATHANASIOS K.; POMONIS, PHILLIPPOS J.; TRAPALIS, CHRISTOS C.; SDOUKOS, ANTONIOS T.; VAIMAKIS, TIBERIUS C. **Preparation of hydroxyapatite via microemulsion route**. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 259, n. 2, p. 254-260, 2003. Disponível em: <[doi:10.1016/S0021-9797\(02\)00233-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(02)00233-3)>. Acesso em 14 abr. 2015.

LACERDA, K. A.; LAMEIRAS, F. S.; SILVA, V. V. **Iodine measurement in porous matrices based on calcium phosphate compounds**. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 280, n. 3, p. 469-473, 2009. Disponível em: <[10.1007/s10967-009-7459-9](https://doi.org/10.1007/s10967-009-7459-9)>. Acesso em 15 abr. 2015.

LACERDA, KÁSSIO ANDRÉ; LAMEIRAS, FERNANDO SOARES; SILVA, VIVIANE VIANA. **Quantification of iodine in porous hydroxyapatite matrices for application as radioactive sources in brachytherapy**. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 50, p. 707-711, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132007000400016>>. Acesso em 20 abr. 2015.

LEONE FA, CIANCAGLINI P, PIZAURO JM, REZENDE AA. **Rat osseous plate ALKALINE phosphatase: mechanism of action of manganese ions.** Biometals, v. 8, n. 1, p. 86-91, 1995. Disponível em: <10.1007/BF00156163>. Acesso em 20 abr. 2015.

LEVENTOURI, T. **Synthetic and biological hydroxyapatites: crystal structure questions.** Biomaterials, v. 27, n. 18, p. 3339-3342, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16519933>>. Acesso em 20 abr. 2015.

LI-YUN, CAO; CHUAN-BO, ZHANG; JIAN-FENG, HUANG. **Influence of temperature, [Ca<sup>2+</sup>], Ca/P ratio and ultrasonic power on the crystallinity and morphology of hydroxyapatite nanoparticles prepared with a novel ultrasonic precipitation method.** Materials Letters, v. 59, n. 14–15, p. 1902-1906, 2005. Disponível em: <[doi:10.1016/j.matlet.2005.02.007](https://doi.org/10.1016/j.matlet.2005.02.007)>. Acesso em 30 abri. 2015.

LINDAHL, C.; XIA, W.; LAUSMAA, J.; ENGQVIST, H. **Incorporation of active ions into calcium phosphate coatings, their release behavior and mechanism.** Biomed Mater, v. 7, n. 4, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/7/4/045018>>. Acesso em 01 mai. 2015.

LIU, DEAN-MO; YANG, QUANZU; TROCZYNSKI, TOM; TSENG, WENJEA J. **Structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite.** Biomaterials, v. 23, n. 7, p. 1679-1687, 2002. Disponível em: <[doi:10.1016/S0142-9612\(01\)00295-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00295-2)>. Acesso em 02 mai. 2015.

LIU, YANQIONG; ZHANG, YU; WANG, JOHN. **Mesocrystals as a class of multifunctional materials.** Crystengcomm, v. 16, n. 27, p. 5948-5967, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C4CE00256C>>. Acesso em 02 mai. 2015.

LIU, YINGKAI; HOU, DEDONG; WANG, GUANGHOU. **A simple wet chemical synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods**. *Materials Chemistry and Physics*, v. 86, n. 1, p. 69-73, 2004. Disponível em: <doi:10.1016/j.matchemphys.2004.02.009>. Acesso em 02 mai. 2015.

LOWE NM1, LOWE NM, FRASER WD, JACKSON MJ. **Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis?** *Proc Nutr Soc*, v. 61, n. 2, p. 181-185, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12133199>. Acesso em 02 mai. 2015.

LOWENSTAM, H. A.; WEINER, S. **Transformation of amorphous calcium phosphate to crystalline dahillite in the radular teeth of chitons**. *Science*, v. 227, n. 4682, p. 51-53, 1985. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/227/4682/51.abstract>. Acesso em 05 mai. 2015.

LUNDAGER MADSEN, HANS E. **Influence of foreign metal ions on crystal growth and morphology of brushite ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) and its transformation to octacalcium phosphate and apatite**. *Journal of Crystal Growth*, v. 310, n. 10, p. 2602-2612, 2008. Disponível em: <doi:10.1016/j.jcrysgro.2008.01.047>. Acesso em 05 mai. 2015.

MA, G. B.; LIU, X. Y. **Hydroxyapatite: Hexagonal or Monoclinic?** *Crystal Growth & Design*, v. 9, n. 7, p. 2991-2994, 2009. Disponível em: <doi: 10.1021/cg900156w>. Acesso em 05 mai. 2015.

MA, GUOBIN; LIU, XIANG YANG. **Hydroxyapatite: Hexagonal or Monoclinic?** *Crystal Growth & Design*, v. 9, n. 7, p. 2991-2994, 2009. Disponível em: < doi: 10.1021/cg900156w>. Acesso em 05 mai. 2015.

MANDEL, SELEN; TAS, A. CUNEYT. **Brushite ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) to octacalcium phosphate ( $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) transformation**



**in DMEM solutions at 36 °C.** Materials Science and Engineering: C, v. 30, n. 2, p. 245-254, 2010.  
Disponível em: <doi:10.1016/j.msec.2009.10.009>. Acesso em 22 abr. 2015.

MARIE, P. J. **Strontium ranelate: a novel mode of action optimizing bone formation and resorption.** Osteoporosis International, v. 16, n. 1, p. S7-S10, 2004. Disponível em <10.1007/s00198-004-1753-8>. Acesso em 30 abr. 2015.

MATSUNAGA, K.; MURATA, H.; SHITARA, K. **Theoretical calculations of the thermodynamic stability of ionic substitutions in hydroxyapatite under an aqueous solution environment.** Journal of Physics-Condensed Matter, v. 22, n. 38, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/22/38/384210>. Acesso em 07 set 2015.

MATSUNAGA, KATSUYUKI; INAMORI, HIROKI; MURATA, Hidenobu. **Theoretical trend of ion exchange ability with divalent cations in hydroxyapatite.** Physical Review B, v. 78, n. 9, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevB.78.094101>. Acesso em 07 set. 2015.

MATSUNAGA, KATSUYUKI; KUWABARA, AKIHIDE. **First-principles study of vacancy formation in hydroxyapatite.** Physical Review B, v. 75, n. 1, p. 014102, 2007. Disponível em: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.75.014102>. Acesso em 15 abr. 2015.

MATSUNAGA, KATSUYUKI; MURATA, HIDENOBU. **Strontium substitution in bioactive calcium phosphates: a first-principles study.** The Journal of Physical Chemistry B, v. 113, n. 11, p. 3584-3589, 2009. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/jp808713m >. Acesso em 05 set. 2015.

MATTEO, CHINELLATO. **Iron Rose images**. 2008. Disponível em: <<http://www.mindat.org/photo-190839.html>>. Acesso em 01 nov. 2015.

MEYERS, M. A.; CHEN, P. Y.; LIN, A. Y. M.; SEKI, Y. **Biological materials: Structure and mechanical properties**. Progress in Materials Science, v. 53, n. 1, p. 1-206, 2008. Disponível em: <[doi:10.1016/j.pmatsci.2007.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2007.05.002)>. Acesso em 17 set. 2015.

MEYERS, MARC ANDRÉ; CHEN, PO-YU; LIN, ALBERT YU-MIN; SEKI, YASUAKI. **Biological materials: Structure and mechanical properties**. Progress in Materials Science, v. 53, n. 1, p. 1-206, 2008. Disponível em: <[doi:10.1016/j.pmatsci.2007.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2007.05.002)>. Acesso em 12 set. 2015.

MOHAN, B. G.; SHENOY, S. J.; BABU, S. S.; VARMA, H. K.; JOHN, A. **Strontium calcium phosphate for the repair of leporine (*Oryctolagus cuniculus*) ulna segmental defect**. J Biomed Mater Res A, v. 101, n. 1, p. 261-271, 2013. Disponível em: <[10.1002/jbm.a.34324](https://doi.org/10.1002/jbm.a.34324)>. Acesso em 17 jun. 2015.

MUKAI, H.; SARUWATARI, K.; NAGASAWA, H.; KOGURE, T. **Aragonite twinning in gastropod nácar**. Journal of Crystal Growth, v. 312, n. 20, p. 3014-3019, 2010. Disponível em: <[doi:10.1016/j.jcrysgro.2010.07.002](https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2010.07.002)>. Acesso em 14 out. 2015.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. **Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite**. Biomaterials, v. 25, n. 17, p. 3829-3835, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15020158>>. Acesso em 16 set. 2015.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. **Development of nanocomposites for bone grafting**. Composites Science and Technology, v. 65, n. 15-16, p. 2385-2406, 2005. Disponível em: <[doi:10.1016/j.compscitech.2005.07.022](https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2005.07.022)>. Acesso em 17 out. 2015.

NASIRI-TABRIZI, B.; HONARMANDI, PEZHMAN; EBRAHIMI-KAHRIZSANGI, R.; HONARMANDI, PEYMAN. **Synthesis of nanosize single-crystal hydroxyapatite via mechanochemical method**. Materials Letters, v. 63, n. 5, p. 543-546, 2009. Disponível em: <doi:10.1016/j.matlet.2008.11.030>. Acesso em 16 set. 2015.

OLSZTA, MATTHEW J.; CHENG, XINGGUO; JEE, SANG SOO; KUMAR, RAJENDRA; KIM, YI-YEOUN; KAUFMAN, MICHAEL J.; DOUGLAS, ELLIOT P.; GOWER, LAURIE B. **Bone structure and formation: A new perspective**. Materials Science and Engineering: R: Reports, v. 58, n. 3-5, p. 77-116, 2007. Disponível em: <doi:10.1016/j.mser.2007.05.001>. Acesso em 23 set. 2015.

PAN Y, FLEET ME. **Compositions of apatite-group minerals: Substitution mechanisms and controlling factors**. Em: Kohn M.J., Rakovan J. Hugues J.M., **Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Material Importance**. Reviews in Mineralogy & Geochemistry 48, pp 13-50. Disponível em: <doi: 10.2113/gscanmin.41.4.1071>. Acesso em 14 ago. 2015.

PABBRUWE, MOREICA B.; STANDARD, OWEN C.; SORRELL, CHARLES C.; HOWLETT, C. ROLFE. **Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants**. Biomaterials, v. 25, n. 20, p. 4901-4910, 2004. Disponível em: <doi:10.1016/j.biomaterials.2004.01.005>. Acesso em 14 ago. 2015.

PAN, H. B.; LI, Z. Y.; WANG, T.; LAM, W. M.; WONG, C. T.; DARVELL, B. W.; LUK, K. D. K.; HU, Y.; LU, W. W. **Nucleation of Strontium-Substituted Apatite**. Crystal Growth & Design, v. 9, n. 8, p. 3342-3345, 2009. Disponível em: <10.1021/cg900038k>. Acesso em 12 set. 2015.

PASTERIS, J. D.; WOPENKA, B.; VALSAMI-JONES, E. **Bone and Tooth Mineralization: Why Apatite?** Elements, v. 4, n. 2, p. 97-104, 2008. Disponível em: <doi:10.2113/GSELEMENTS.4.2.97> Acesso em 14 ago. 2015.

PECHARSKY, V. K., . ZAVALIJ , P. Y. **Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials**. New York, NY, USA: Springer Science+Business Media, Inc., 2005.D  
Disponível em: <<http://www.springer.com/us/book/9780387095783>>.  
Acesso em 14 set. 2015.

PORTER, M. M.; MCKITTRICK, J. **It's tough to be strong: Advances in bioinspired structural ceramic-based materials**. American Ceramic Society Bulletin, v. 93, n. 5, p. 18-24, 2014. Disponível em: <<http://ceramics.org/wp-content/uploads/2014/05/McKittrick-article.pdf>>. Acesso em 15 set. 2015.

POSNER, AARON S.; BETTS, FOSTER; BLUMENTHAL, NORMAN C. **Formation and structure of synthetic and bone hydroxyapatites**. Progress in Crystal Growth and Characterization, v. 3, n. 1, p. 49-64, 1980. Disponível em: <[doi:10.1016/0146-3535\(80\)90011-8](https://doi.org/10.1016/0146-3535(80)90011-8)>. Acesso em 23 mar. 2015

PRAMANIK, SUMIT; AGARWAL, AVINASH KUMAR; RAI, K. N.; GARG, ASHISH. **Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process**. Ceramics International, v. 33, n. 3, p. 419-426, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.ceramint.2005.10.025](https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2005.10.025)> . Acesso em 27 ago. 2015.

PRZENIOSŁO, RADOSŁAW; SOSNOWSKA, IZABELA; STEKIEL, MICHAŁ; WARDECKI, DARIUSZ; FITCH, ANDREW; B. JASIŃSKI, JACEK. **Monoclinic deformation of the crystal lattice of hematite  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>**. Physica B: Condensed Matter, v. 449, p. 72-76, 2014. Disponível em: <[doi:10.1016/j.physb.2014.04.074](https://doi.org/10.1016/j.physb.2014.04.074)>. Acesso em 25 ago. 2015.

RABELO NETO, JOSÉ DA SILVA. . **Hidroxiapatita sintética nanoestruturada e esmalte dental aquecidos e irradiados por laser de Er, Cr: YSGG**. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, v. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais), 2009.

Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-06112009-152905/>>. Acesso em 14 set. 2015.

RAJABI-ZAMANI, A. H.; BEHNAMGHADER, A.; KAZEMZADEH, A. **Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nonalkoxide sol-gel method**. Materials Science and Engineering: C, v. 28, n. 8, p. 1326-1329, 2008. Disponível em: <[doi:10.1016/j.msec.2008.02.001](https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.02.001)> Acesso em 26 ago. 2015.

RAKOVAN, JOHN F.; HUGHES, JOHN M. **Strontium in the apatite structure strontian fluorapatite and belovite-(Ce)**. The Canadian Mineralogist, v. 38, n. 4, p. 839-845, 2000. Disponível em: <<http://www.canmin.org/content/38/4/839.abstract>>. Acesso em 23 ago. 2015.

RAKOVAN, JOHN F.; PASTERIS, JILL D. **A Technological gem: materials, medical, and environmental mineralogy of apatite**. Elements, v. 11, n. 3, p. 195-200, 2015. Disponível em: <<http://elements.geoscienceworld.org/content/11/3/195.abstract>>. Acesso em 12 ago. 2015.

REN, FUZENG; DING, YONGHUI; GE, XIANG; LU, XIONG; WANG, KEFENG; LENG, YANG. **Growth of one-dimensional single-crystalline hydroxyapatite nanorods**. Journal of Crystal Growth, v. 349, n. 1, p. 75-82, 2012. Disponível em: <[doi:10.1016/j.jcrysgro.2012.04.003](https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2012.04.003)>. Acesso em 27 set. 2015.

REN, FUZENG; XIN, RENLONG; GE, XIANG; LENG, YANG. **Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites**. Acta Biomaterialia, v. 5, n. 8, p. 3141-3149, 2009. Disponível em: <[doi:10.1016/j.actbio.2009.04.014](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.04.014)>. Acesso em 14 set. 2015.

RENAUDIN, G.; JALLOT, E.; NEDELEC, J. M. **Effect of strontium substitution on the composition and microstructure of sol-gel derived calcium phosphates**. Journal of Sol-Gel Science and Technology, v. 51, n. 3, p. 287-294, 2009. Disponível em: <10.1007/s10971-008-1854-5>. Acesso em 18 set. 2015.

RENAUDIN, G.; LAQUERRIERE, P.; FILINCHUK, Y.; JALLOT, E.; NEDELEC, J. M. **Structural characterization of sol-gel derived Sr-substituted calcium phosphates with anti-osteoporotic and anti-inflammatory properties**. Journal of Materials Chemistry, v. 18, n. 30, p. 3593-3600, 2008. Disponível em: <10.1039/B804140G>. Acesso em 14 set. 2015.

RODRÍGUEZ-LORENZO, L. M.; VALLET-REGÍ, M. **Controlled Crystallization of Calcium Phosphate Apatites**. Chemistry of Materials, v. 12, n. 8, p. 2460-2465, 2000. Disponível em: <10.1021/cm001033g>. Acesso em 25 ago. 2015.

ROVERI, N.; IAFISCO, M. **Evolving application of biomimetic nanostructured hydroxyapatite**. Nanotechnol Sci Appl, v. 3, p. 107-125, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24198477>>. Acesso em 25 ago. 2015.

RZ, LEGEROS. **Calcium phosphates in oral biology and medicine**. Monogr Oral Sci., v. 15, p. 1-201, 1991. Disponível em: <<http://www.karger.com/Book/Home/221958>>. Acesso em 25 ago. 2015.

SADAT-SHOJAI, MEHDI; KHORASANI, MOHAMMAD-TAGHI; DINPANAH-KHOSHDARGI, EHSAN; JAMSHIDI, AHMAD. **Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures**. Acta Biomater, v. 9, n. 8, p. 7591-7621, 2013. Disponível em: <doi:10.1016/j.actbio.2013.04.012>. Acesso em 23 set. 2015.

SAERI, M. R.; AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.;  
SORRELL, C. C. **The wet precipitation process of hydroxyapatite.** Materials Letters, v. 57, n. 24–25, p. 4064–4069, 2003. Disponível em:  
<doi:10.1016/S0167-577X(03)00266-0>. Acesso em 14 set. 2015.

SCHWAHN, DIETMAR; MA, YURONG; CÖLFEN, HELMUT.  
**Mesocrystal to Single Crystal Transformation of d,l-Alanine  
Evidenced by Small Angle Neutron Scattering.** The Journal of  
Physical Chemistry C, v. 111, n. 8, p. 3224–3227, 2007. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1021/jp068813i >. Acesso em 14 set. 2015.

SHU, CAI; XIANZHU, YU; ZHANGYIN, XIAO; GUOHUA, XU;  
HONG, LV; KANGDE, YAO. **Synthesis and sintering of  
nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin-based  
precipitation method.** Ceramics International, v. 33, n. 2, p. 193–196,  
2007. Disponível em: <doi:10.1016/j.ceramint.2005.09.001>. Acesso  
em 22 set. 2015.

SHU, CAI; YANWEI, WANG; HONG, LV; ZHENGZHENG, PENG;  
KANGDE, YAO. **Synthesis of carbonated hydroxyapatite nanofibers  
by mechanochemical methods.** Ceramics International, v. 31, n. 1, p.  
135–138, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.ceramint.2004.04.012>.  
Acesso em 14 ago. 2015.

SIKIRIĆ, M. DUTOUR; FÜREDI-MILHOFER, H. **The influence of  
surface active molecules on the crystallization of biominerals in  
solution.** Advances in Colloid and Interface Science, v. 128–130, n. 0,  
p. 135–158, 2006. Disponível em: <doi:10.1016/j.cis.2006.11.022>.  
Acesso em 23 set. 2015.

SIVAKUMAR, G. R.; GIRIJA, E. K.; KALKURA, S. N.;  
SUBRAMANIAN, C. **Crystallization and characterization of  
calcium phosphates: Brushite and monetite.** Crystal Research and  
Technology, v. 33, n. 2, p. 197–205, 1998.  
Disponível em: <DOI: 10.1002/(SICI)1521-4079>. Acesso em 14 ago.  
2015.

SLEPKO, A.; DEMKOV, A. A. **Hydroxyapatite: Vibrational spectra and monoclinic to hexagonal phase transition**. Journal of Applied Physics, v. 117, n. 7, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1063/1.4908001>>. Acesso em 28 ago. 2015.

SLEPKO, ALEXANDER; DEMKOV, ALEXANDER A. **First-principles study of the biomineral hydroxyapatite**. Physical Review B, v. 84, n. 13, p. 134108, 2011. Disponível em: <<http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.84.134108>>. Acesso em 26 set. 2015.

ŚLÓSARCZYK, ANNA; PASZKIEWICZ, ZOFIA; PALUSZKIEWICZ, CZESŁAWA. **FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods**. Journal of Molecular Structure, v. 744–747, n. 0, p. 657–661, 2005. Disponível em: <[doi:10.1016/j.molstruc.2004.11.078](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2004.11.078)>. Acesso em 23 set. 2015.

SUN, RUIXUE; LU, YUPENG; CHEN, KEZHENG. **Preparation and characterization of hollow hydroxyapatite microspheres by spray drying method**. Materials Science and Engineering: C, v. 29, n. 4, p. 1088–1092, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092849310800191>>. Acesso em 14 ago. 2015.

TAMIMI, FALEH; SHEIKH, ZEESHAN; BARRALET, JAKE. **Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite**. Acta Biomater, v. 8, n. 2, p. 474–487, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174270611100349>>. Acesso em 14 ago. 2015.

TAN, K.; CHEANG, P.; HO, I. A. W.; LAM, P. Y. P.; HUI, K. M. **Nanosized bioceramic particles could function as efficient gene delivery vehicles with target specificity for the spleen**. Gene Ther, v. 14, n. 10, p. 828–835, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/sj.gt.3302937>>. Acesso em 13 set. 2015.



TAO, JINHUI; JIANG, WENGE; ZHAI, HALEI; PAN, HAIHUA; XU, XURONG; TANG, RUIKANG. **Structural Components and Anisotropic Dissolution Behaviors in One Hexagonal Single Crystal of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate**. *Crystal Growth & Design*, v. 8, n. 7, p. 2227-2234, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/cg700808h>>. Acesso em 01 jul. 2015.

TAO, JINHUI; PAN, HAIHUA; ZHAI, HALEI; WANG, JIERU; LI, LI; WU, JIA; JIANG, WENGE; XU, XURONG; TANG, RUIKANG. **Controls of Tricalcium Phosphate Single-Crystal Formation from Its Amorphous Precursor by Interfacial Energy**. *Crystal Growth & Design*, v. 9, n. 7, p. 3154-3160, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/cg801130w>>. Acesso em 30 jul. 2015.

TAS, A. C. **Monetite ( $\text{CaHPO}_4$ ) Synthesis in Ethanol at Room Temperature**. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 92, n. 12, p. 2907-2912, 2009. Disponível em: <[doi:10.1111/j.1551-2916.2009.03351.x](https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2009.03351.x)>. Acesso em 12 ago. 2015.

TAS, A. C.; BHADURI, S. B. **Chemical processing of  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : Its conversion to hydroxyapatite**. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 87, n. 12, p. 2195-2200, 2004. Disponível em: <[10.1111/j.1151-2916.2004.tb07490.x](https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.2004.tb07490.x)>. Acesso em 26 ago. 2015.

TIRRELL, MATTHEW; KOKKOLI, EFROSINI; BIESALSKI, MARKUS. **The role of surface science in bioengineered materials**. *Surface Science*, v. 500, n. 1-3, p. 61-83, 2002. Disponível em: <[doi:10.1016/S0039-6028\(01\)01548-5](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(01)01548-5)>. Acesso em 14 jul. 2015.

TOSHIMA, T.; HAMAI, R.; TAFU, M.; TAKEMURA, Y.; FUJITA, S.; CHOHI, T.; TANDA, S.; LI, S.; QIN, G. W. **Morphology control of brushite prepared by aqueous solution synthesis**. *Journal of Asian Ceramic Societies*, v. 2, n. 1, p. 52-56, 2014. Disponível em: <[doi:10.1016/j.jascer.2014.01.004](https://doi.org/10.1016/j.jascer.2014.01.004)>. Acesso em 15 set. 2015.

VALLET-REGÍ, MARIA. **Ceramics for medical applications**. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, n. 2, p. 97-108, 2001. Disponível em: <10.1039/B007852M>. Acesso em 28 ago. 2015.

WAGNER, VOLKER; DULLAART, ANWYN; BOCK, ANNE-KATRIN; ZWECK, AXEL. **The emerging nanomedicine landscape**. Nat Biotech, v. 24, n. 10, p. 1211-1217, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nbt1006-1211>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

WALTER, DIRK. **Characterization of synthetic hydrous hematite pigments**. Thermochimica Acta, v. 445, n. 2, p. 195-199, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004060310500415>>. Acesso em 12 set. 2015.

WANG, AI-JUAN; LU, YU-PENG; ZHU, RUI-FU; LI, SHI-TONG; MA, XAO-LONG. **Effect of process parameters on the performance of spray dried hydroxyapatite microspheres**. Powder Technology, v. 191, n. 1-2, p. 1-6, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003259100800469>>. Acesso em 23 set. 2015.

WANG, L. J.; NANCOLLAS, G. H. **Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution**. Chem Rev, v. 108, n. 11, p. 4628-4669, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2743557/>>. Acesso em 28. set. 2015.

WANG, X.; ZHUANG, J.; PENG, Q.; LI, Y. D. **Liquid-Solid-Solution Synthesis of Biomedical Hydroxyapatite Nanorods**. Advanced Materials, v. 18, n. 15, p. 2031-2034, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/adma.200600033>>. Acesso em 08 set. 2015.

WEGST, U. G.; SCHECTER, M.; DONIUS, A. E.; HUNGER, P. M. **Biomaterials by freeze casting**. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, v. 368, n. 1917, p. 2099-2121, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20308117>>. Acesso em 08 set. 2015.

WEGST, ULRIKE G. K.; BAI, HAO; SAIZ, EDUARDO; TOMSIA, ANTONI P.; RITCHIE, ROBERT O. **Bioinspired structural materials**. *Nat Mater*, v. 14, n. 1, p. 23-36, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nmat4089>>. Acesso em 13 ago. 2015.

WELLS, H. GIDEON. **Pathological Calcification**. *The Journal of Medical Research*, v. 14, n. 3, p. 491-525, 1906. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2099785/>>. Acesso em 13 ago. 2015.

WHITE, T. **Apatite - an adaptive framework structure**. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, v. 57 p. 307-401 2005. Disponível em: <10.2138/rmg.2005.57.10>. Acesso em 15 set. 2015.

WHITE, TIM; FERRARIS, CRISTIANO; KIM, JEAN; MADHAVI, SRINIVASAN. **Apatite – an adaptive framework structure**. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, v. 57, n. 1, p. 307-401, 2005. Disponível em: <<http://rimg.geoscienceworld.org/content/57/1/307.short>>. Acesso em 13 ago. 2015.

WONG, K. L.; WONG, C. T.; LIU, W. C.; PAN, H. B.; FONG, M. K.; LAM, W. M.; CHEUNG, W. L.; TANG, W. M.; CHIU, K. Y.; LUK, K. D. K.; LU, W. W. **Mechanical properties and in vitro response of strontium-containing hydroxyapatite/polyetheretherketone composites**. *Biomaterials*, v. 30, n. 23-24, p. 3810-3817, 2009. Disponível em: <[doi:10.1016/j.biomaterials.2009.04.016](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.04.016)>. Acesso em 15 set. 2015.

XIA, W.; GRANDFIELD, K.; SCHWENKE, A.; ENGQVIST, H. **Synthesis and release of trace elements from hollow and porous hydroxyapatite spheres.** *Nanotechnology*, v. 22, n. 30, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/22/30/305610>>. Acesso em 15 set. 2015.

XIA, WEI; LAUSMAA, JUKKA; THOMSEN, PETER; ENGQVIST, HÅKAN. **Highly packed and aligned fluoride substituted hydroxyapatite via a surfactant-free process.** *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 100B, n. 1, p. 75-81, 2012. Disponível em: <DOI: 10.1002/jbm.b.31924>. Acesso em 13 ago. 2015.

XUE, B.; SHI, Y. F.; HE, S. M.; LI, L. Y.; GUO, Z. Z.; ZHANG, L. L.; LI, H. **Induced Synthesis of Monoclinic Hydroxyapatite by Chitosan and Structure Characterization.** *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese*, v. 31, n. 12, p. 2339-2343, 2010. Disponível em: <<http://www.cjcu.jlu.edu.cn/EN/abstract/abstract13229.shtml>>. Acesso em 18 set. 2015.

YANG, PIAOPING; QUAN, ZEWEI; LI, CHUNXIA; KANG, XIAOJIAO; LIAN, HONGZHOU; LIN, JUN. **Bioactive, luminescent and mesoporous europium-doped hydroxyapatite as a drug carrier.** *Biomaterials*, v. 29, n. 32, p. 4341-4347, 2008. Disponível em: <[doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.042](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.07.042)>. Acesso em 17 set. 2015.

YAO, F.; LEGEROS, J. P.; LEGEROS, R. Z. **Simultaneous incorporation of carbonate and fluoride in synthetic apatites: Effect on crystallographic and physico-chemical properties.** *Acta Biomater*, v. 5, n. 6, p. 2169-2177, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19269268>>. Acesso em 21 set. 2015.

YAO, N.; EPSTEIN, A.; AKEY, A. **Crystal growth via spiral motion in abalone shell nácar.** *Journal of Materials Research*, v. 21, n. 8, p.

1939-1946, 2006. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1557/jmr.2006.0252>>. Acesso em 21 ago. 2015.

YOUNG, R.A. **Dependence of apatite properties on crystal structural details.** Trans N Y Acad Sci, v. 29, n. 7, p. 10, 1967.

Disponível em: <doi: 10.1111/j.2164-0947.1967.tb02836.xt>. Acesso em 21 set. 2015.

YUWONO, V. M.; BURROWS, N. D.; SOLTIS, J. A.; PENN, R. L. **Oriented aggregation: formation and transformation of mesocrystal intermediates revealed.** J Am Chem Soc, v. 132, n. 7, p. 2163-2165, 2010. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20112897>>. Acesso em 21 set. 2015.

ZE PINTO PROSPECT, Aldeia, Conselheiro Pena, Minas Gerais, Brazil. Disponível em: <<http://www.mindat.org/locentry-43685.html>>. Acesso em 17 set. 2015.

ZHANG, C. M.; YANG, J.; QUAN, Z. W.; YANG, P. P.; LI, C. X.; HOU, Z. Y.; LIN, J. **Hydroxyapatite Nano- and Microcrystals with Multiform Morphologies: Controllable Synthesis and Luminescence Properties.** Crystal Growth & Design, v. 9, n. 6, p. 2725-2733, 2009. Disponível em: <doi: 10.1021/cg801353n>. Acesso em 17 set. 2015.

ZHANG, ZHAN HUI; HUANG, ZHI LIANG; SHI, HE BIN; CHI, RU AN; LI, JIAN QIU; SUN, NIAN. **Synthesis and growth mechanism of carbonated hydroxyapatite whisker from natural collophanite via a template-directed homogeneous precipitation method.** Journal of Alloys and Compounds, v. 486, n. 1-2, p. 415-417, 2009. Disponível em: <doi:10.1016/j.jallcom.2009.06.186>. Acesso em 26 ago. 2015.

ZHU, KONGJUN; YANAGISAWA, KAZUMICHI; ONDA, AYUMU; KAJIYOSHI, KOJI. **Hydrothermal synthesis and morphology**

**variation of cadmium hydroxyapatite.** Journal of Solid State Chemistry, v. 177, n. 12, p. 4379-4385, 2004. Disponível em: <doi:10.1016/j.jssc.2004.09.025>. Acesso em 14 set. 2015.